

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO ELETROCORTICOGRAMA COMO UM
BIOINDICADOR DE EXPOSIÇÃO CEREBRAL À RADIAÇÃO IONIZANTE

RECIFE-PE

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO ELETROCORTICOGRAMA COMO UM
BIOINDICADOR DE EXPOSIÇÃO CEREBRAL À RADIAÇÃO IONIZANTE

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

Orientador: Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-orientadora: Dr^a. Isvânia Maria Serafim da Silva

RECIFE-PE

2015

Ficha catalográfica

A282c Aguiar, Leandro Álvaro de Alcantara
Correlação de longo alcance no eletrocorticograma como
um bioindicador de exposição cerebral à radiação ionizante /
Leandro Álvaro de Alcantara Aguiar. – Recife, 2015.
84 f. : il.

Orientador: Romildo de Albuquerque Nogueira.
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2015.
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Espectro de potência 2. Análise de flutuação
destendenciada, 3. Adiação gama 4. Biomarcador
I. Nogueira, Romildo de Albuquerque, orientador II. Título

CDD 636.089

LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

“CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO ELETROCORTICOGRAMA COMO UM
BIOINDICADOR DE EXPOSIÇÃO CEREBRAL À RADIAÇÃO IONIZANTE”

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

Aprovada em 20 de Fevereiro de 2015.

Banca examinadora

Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal – UFRPE
Orientador

Dr. Thiago de Salazar e Fernandes
Departamento de Biofísica e Radiobiologia – UFPE

Dr. Pedro Hugo de Figueirêdo
Departamento de Física – UFRPE

Dr. George Chaves Jimenez
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

*Se o passado acabou e o futuro não
chegou, tudo o que existe é o agora.
Então quanto tempo dura o agora”*

Santo Agostinho

AGRADECIMENTOS

A Deus que dirijo minha maior gratidão. Mais do que me criar, deu propósito à minha vida.

A meus pais, Cleonício e Maria, e minhas irmãs Lays, Lidiane e Luane Aguiar, pelo apoio incondicional e pela compreensão nos momentos de ausência.

Ao Professor Dr. Romildo Nogueira, pela orientação dedicada, desde a época da graduação. Também pela amizade, confiança e ensinamentos, que tem sido preciosos para minha formação acadêmica, profissional e pessoal.

À Prof^a Isvânia Serafim e Prof. Thiago Salazar que abraçaram este projeto colaborando no desenvolvimento do mesmo e discussões pertinentes à elaboração dessa dissertação.

As minhas grandes amigas da graduação e agora de toda a vida Juliete, Ligia, e Olívia por me acolherem na cidade grande e me proporcionaram grandes momentos de felicidade durante a graduação e compartilharem as angústias da vida universitária.

À Thais Almeida e Carol Jones por terem se tornado a minha segunda família.

Aos amigos do LABTEC, Laísia Andrade, Renatta Priscilla, Danielle Dutra, Daniella Tavares, Edhergue Costa, Renato Moraes, Walter Santos, Jeine Emanuele, Gesilda Florenço, José Radamés, Eva Luana, Ardiles Juan e a Prof^a Dr. Marliete Soares, pelo convívio e pelos bons momentos durante todos esses anos.

A todos os professores e funcionários que fazem o PPGBA (Prof. Joaquim Evêncio, Prof. Valdemiro Júnior, Profa. Ana Porto, Profa. Valéria, Prof. Álvaro, Prof. Romildo, Prof. Fabrício, Prof. José Vitor, Profa. Keila, Profa. Tatiana, Prof. Rinaldo, Prof. Lêucio, Profa. Taciana e Edna Cherias).

Aos colegas Ana Greice, Anna Kelly, Jaciel Oliveira, Wanessa Noadya, Jéssica Lima, Laíse Souza, Amanda Sales, Anna Carolina, Fabiana Felix, Osmar Soares, Aline Mariano, Carolline Guimarães, Cintia Giselle, obrigado pela convivência compartilhada.

A meus amigos que independente do caminho trilhado, permanecem presentes: Rodrigo Caetano, Ronaldo Alves, Jailton Olímpio, Gilberto Junior.

Ao Instituto de Radioterapia Waldemir Miranda (IRWAM), em especial pelo físico Guilherme, por permitiram a realização da irradiação dos animais.

Ao CENAPESQ, pelo espaço físico cedido para realização das análises laboratoriais.

Ao Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional (LABTEC)
pelo espaço físico cedido para a realização dos experimentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
pela concessão da bolsa.

LISTA DE ABREVIATURAS

DFA.....	Análise de Flutuação Destendenciada
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECoG	Eletrocorticograma
EEG	Eletroencefalograma
FISH.....	Hibridização fluorescente in situ
ICRP	Comissão Internacional de Proteção Radiológica
PCC	Premature chromosome condensation
PKA.....	Proteína quinase A
PKC	Proteína Quinase C
RI	Radiações ionizantes
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TLD.....	Dosímetros termoluminescentes

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Espectro eletromagnético. Notar a grande variação da frequência e comprimento de onda das radiações (seta vermelha) que variam desde os raios cósmicos até os campos eletromagnéticos de baixa frequência. Fonte: <http://www.sbfisica.org.br/v1/novopion/index.php/publicacoes/imagens/130-espectro-eletromagnetico>.....15
- Figura 2. Divisão do sistema nervoso humano (Fonte: LENT, 2003, p.8).20
- Figura 3. Imagem representativa de neurônios com diversos tipos morfológicos, localizados em diferentes regiões do sistema nervoso: pseudounipolar (A), estrelado (B), de Purkinje (C), unipolar (D) e piramindal (E). (Fonte: LENT, 2003, p. 17).22
- Figura 4. Representação de uma sinapse química. (A) Após a chegada do potencial de ação (PA), o neurotransmissor liberado na fenda sináptica difunde-se até os receptores situados na membrana pós-sináptica. (B) A reação do neurotransmissor com os receptores provoca a abertura dos canais iônicos e a entrada de cátions, resultando em um potencial pós-sináptico (PPS) (Fonte: LENT, 2003, p.128).23

RESUMO

Compreender os efeitos biológicos da radiação ionizante e sua possível influência sobre o sistema nervoso é de grande interesse clínico. No entanto, ainda são poucos os estudos eletrofisiológicos da atividade cerebral após exposição a radiações ionizantes. Uma nova abordagem metodológica para avaliar os possíveis efeitos da radiação ionizante sobre a atividade do cérebro é o uso de métodos matemáticos na análise de séries temporais complexas oriundas das oscilações da atividade cerebral registradas no eletrocorticograma (ECoG). Este trabalho tem como objetivo utilizar a potência média dos diferentes ritmos cerebrais obtida no espectro de potência e o expoente α da análise de flutuação destendenciada (DFA, do inglês *detrended fluctuation analysis*) como biomarcadores de exposição à radiação gama no cérebro. Os animais foram divididos em três grupos: um controle e dois irradiados, avaliados 24 horas (IR24) e 90 dias (IR90) após exposição à 18 Gy de radiação gama a partir de uma fonte de cobalto-60, a mesma utilizada na radioterapia. Após aplicação de um filtro da transformada rápida de Fourier (FFT, do inglês *fast Fourier transform*) no registro do ECoG foram obtidos os ritmos delta, teta, alfa e beta. Para parametrizar o sinal foram calculadas as potências médias dos diferentes ritmos cerebrais e os α -expoentes do DFA tanto de cada ritmo como para todo sinal do ECoG. Ambos os parâmetros sofreram alterações 24 h após a irradiação revelando que houve mudanças significativas no padrão do registro do ECoG. Algumas dessas mudanças foram persistentes 90 dias após a exposição à radiação ionizante. Em particular, a onda teta, em ambos os métodos, mostrou-se um marcador mais sensível 24 h após a radiação em relação às outras ondas, o que sugere que essa onda pode ser um possível biomarcador de exposição à radiação ionizante.

Palavras-chave: espectro de potência, análise de flutuação destendenciada, radiação gama, biomarcador.

ABSTRACT

To understand ionization radiation biological effects and its effect on the nervous system is of great clinical interest. However, there are few electrophysiological studies of brain activity after exposure to ionizing radiation. A new methodological approach to evaluate the possible effects of ionizing radiation on brain activity is the use of mathematical methods in the analysis of complex time series originating from fluctuations in brain activity recorded in eletrocorticograma (ECoG). This work aims to use the average power of different brain rhythms obtained in the power spectrum and the coefficient α detrended fluctuation analysis (DFA) as gamma radiation biomarkers of the exposure in the brain. The animals were divided into three groups: one control and two irradiated evaluated 24 hours (IR24) and 90 days (IR90) after exposure to 18 Gy of gamma irradiation from a cobalt-60 source, the same as used in radiotherapy. After applying a filter FFT (fast Fourier transform) on log ECoG were obtained delta rhythms, theta, alpha and beta. To parameterize the signal were calculated average power of different brain rhythms and α -exponents of both DFA each rhythm as for all ECoG signal. Both parameters suffered 24 h changes after irradiation revealed that there were significant changes in the pattern of ECoG record. Some of these changes were persistent 90 days after exposure to ionizing radiation. In particular, theta wave, in both methods, proved to be a more sensitive marker 24 h after radiation relative to the other waves, suggesting that this wave may be a potential biomarker of exposure to ionizing radiation.

Keywords: power spectrum, Detrended fluctuation analysis, gamma radiation, biomarker.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
CAPÍTULO I	12
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Radiações	15
2.2 Efeitos da Radiação no Tecido Biológico	16
2.3 Sistema Nervoso	20
2.4 Gênese do EEG	24
2.5 Complexidade & Cérebro	26
2.6 Radiação & Cérebro.....	29
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO II	41
ANEXOS	59

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros efeitos biológicos atribuídos às radiações ionizantes (RI) foram observados no fim do século XIX, pouco depois da descoberta dos raios X por Roentgen em 1895 e da radioatividade natural por Becquerel em 1896. Dentre estes efeitos, foi evidenciado o surgimento de radiodermite logo após uma exposição à radiação ionizante e o surgimento de câncer radioinduzido alguns anos após as primeiras aplicações dos raios X para a obtenção de imagens do interior do corpo humano (BUSHONG, 2012).

Dois cientistas franceses, Bergonié e Tribondeau, observaram que a radiosensibilidade era uma função do estado metabólico do tecido que está sendo irradiado. Este conceito tornou-se conhecido como a “Lei de Bergonié e Tribondeau” e estabelece que a radiosensibilidade dos tecidos vivos pode variar da seguinte maneira: (1) Quanto mais diferenciada for a célula, maior é a sua resistência à radiação; (2) Quanto mais jovem for o tecido ou órgão, mais radiosensível ele será; (3) Quanto maior a atividade metabólica, maior a radiosensibilidade; (4) Quando a taxa de proliferação celular e a taxa de crescimento tecidual aumentam, a radiosensibilidade também aumenta (BERGONIÉ; TRIBONDEAU, 1906).

Desta forma considera-se que um feto seja mais sensível à radiação do que uma criança ou um adulto, pois contém células indiferenciadas de tecidos e órgãos jovens com elevada atividade metabólica e alta taxa de proliferação celular e tecidual (BUSHONG, 2012). Consequentemente, o tecido nervoso adulto vem sendo considerado extremamente radorresistente por ser constituído principalmente por neurônios que são células altamente especializadas e que quando se tornam células diferenciadas mantenha-se, durante o resto da vida do indivíduo, na fase G0 do crescimento, que corresponde a fase do ciclo celular onde a célula permanece indefinidamente na intérfase (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

A vulnerabilidade do cérebro humano à radiação tem sido um ponto de debate desde os primeiros experimentos radiobiológicos, que, em 1896, identificaram que o raio X afetou funções vitais em pequenos animais (TARKHANOV, 1896). De 1896 até

1903, foram mostradas anormalidades neurofisiológicas significantes devido a exposição à RI (LONDON, 1903; ZHUKOVSKY, 1903; DANYSZ, 1903).

A descoberta do eletroencefalograma (EEG) por Hans Berg em 1929 foi de grande importância para que uma década depois os eletrofisiologistas pudessem usá-lo em pesquisas científicas. O EEG corresponde a oscilações de potencial elétrico que ocorrem continuamente entre regiões monitoradas no couro cabeludo, utilizando eletrodos acoplados a sistemas amplificadores e de registro (BUZSÁKI, 2006). Davis e Davis (1939) foram os primeiros autores que usaram o EEG para estudar os efeitos da radiação ionizante no cérebro e revelaram que em macacos irradiados ocorriam mudanças significativas na atividade elétrica cerebral.

Uma técnica semelhante ao EEG é o eletrocorticograma (ECoG) que é uma metodologia que permite o registro da atividade elétrica do córtex cerebral através de eletrodos colocados diretamente na superfície exposta do córtex. O ECoG possui uma resolução maior que o EEG pois não há atenuações de potenciais pós-sinápticos pelo crânio que tem baixa condutância (KIMIYAKI et al., 2007).

Um estudo recente ilustrou que exposições sub-crônicas ao cézio-137, após o acidente de Chernobyl, levaram a modificações moleculares de citocinas pró e anti-inflamatórias, bem como da via do óxido nítrico no cérebro. Esta resposta neuroinflamatória pode contribuir para alterações eletrofisiológicas e bioquímicas observadas após exposição crônica ao cézio-137 (LESTAEVEL et al., 2008). Um estudo de caso mostra que após se submeter a seções de radioterapia para tratamento de tumor no cérebro o paciente logo em seguida apresentava alucinações (LAM; LEUNG; CHOW, 1998).

As doses utilizadas na clínica médica para a radioterapia e o radiodiagnóstico são feitas considerando que o cérebro é radioresistente (BUSHONG, 2012). Todavia, contradições em relação às alterações que as RI podem causar no cérebro são existentes na literatura (DAVIS; DAVIS, 1939; YURYEV, 2001). Assim, a necessidade da utilização de novas ferramentas para avaliar se as RI realmente são seguras para a função cerebral nas doses usuais empregadas na radioterapia e em radiodiagnóstico são de grande interesse. Além do mais, para o entendimento da dinâmica da complexa rede neuronal, tem se aplicado, cada vez mais, métodos de dinâmica não-linear em seu estudo (KORN; FAURE, 2003).

Este trabalho objetivou a utilização de métodos matemáticos linear e não linear para identificar possíveis variações eletrofisiológicas em ratos após a exposição à radiação gama, procurando identificar possíveis biomarcadores de exposição cerebral à radiação ionizante com base nos métodos propostos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Radiações

A radiação é a propagação de energia sob a forma corpuscular e/ou eletromagnética. A radiação corpuscular é formada por partículas elementares ou nucleares. Por sua vez as radiações eletromagnéticas são oscilações perpendiculares do campo magnético e elétrico, que se propagam com velocidade constante no espaço (OKUNO, 2013).

Considerando a teoria dos quantas, onde a energia do fóton é igual ao produto da constante de Planck pela frequência particular de luz do fóton, Bohr postulou que a energia dos orbitais deveria estar relacionada com os múltiplos inteiros de $h/2\pi$, dado que h é a constante de Planck (GARCIA, 2002; OKUNO, 2013).

As frequências e os comprimentos das ondas podem definir um espectro com várias regiões (Figura 1), formando o espectro eletromagnético. Cada onda possui uma única frequência e comprimento. Assim é possível identificar os diferentes tipos de radiações eletromagnéticas que variam na frequência, energia e comprimento de onda.

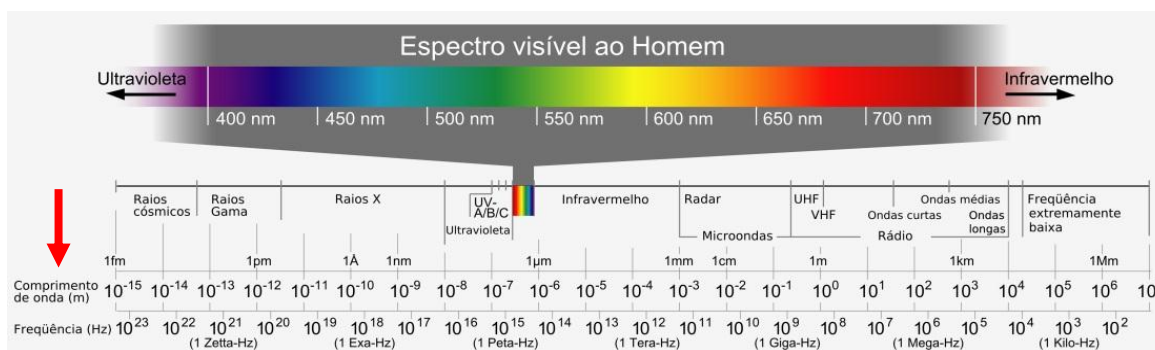


Figura 1. Espectro eletromagnético. Pode-se notar a grande variação da frequência e comprimento de onda das radiações (seta vermelha) que variam desde os raios cósmicos até os campos eletromagnéticos de baixa frequência. Fonte: <http://www.sbfisica.org.br/v1/novopion/index.php/publicacoes/imagens/130-espectro-eletromagnetico>

Estas ondas são geralmente classificadas, de acordo com seu comprimento e com seu efeito sobre a matéria, podendo ser classificadas em ionizantes e não ionizantes. As radiações não ionizantes são as que não possuem energia para remover elétrons dos átomos e que possuem comprimento de onda maior que 200 nm, como a ultravioleta, luz visível, infravermelho, micro-ondas e radiofrequências. Por sua vez as radiações ionizantes são as que possuem comprimento de onda

menor que 200 nm e são capazes de ionizar o átomo, como os raios x e raios gama (OKUNO, 2013).

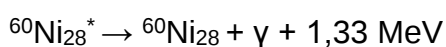
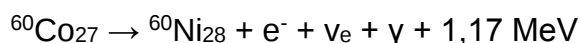
2.2 Efeitos da Radiação no Tecido Biológico

Ao penetrarem em um corpo a radiação interage com a matéria, onde esta interação dependerá da energia que a radiação possui, além do tipo de tecido, intensidade e tempo de exposição (TAHUATA et al., 2003). Quando o corpo é exposto à radiação ocorre transferência de energia, que nem sempre é totalmente absorvida. A Dose Absorvida é uma grandeza dosimétrica fundamental expressa pela razão entre a energia absorvida e a massa do volume de material atingido (IAEA, 2011), foi definida com o objetivo de caracterizar as interações da radiação com a matéria e as transferências e deposições de energia (GRUSELL, 2015).

Uma das radiações eletromagnéticas mais perigosas biologicamente é a radiação gama por possuir uma frequência extremamente elevada, assim tem uma alta energia de ionização. São produzidos, classicamente, pelo decaimento nuclear de átomos, conhecido como decaimento gama (L'ANNUNZIATA, 2007; VAPAILLE; BARBOTTIN, 1999). A radiação gama foi identificada por Paul Villard, em 1900, onde somente três anos após Rutherford a chamou de gama. Rutherford identificou que esta radiação não sofria deflexão em campo magnético, estabelecendo que é uma onda eletromagnética tal como o raio X (OKUNO, 2013).

No decaimento do radioativo por emissão de radiação alfa ou beta, normalmente o núcleo residual possui núcleos fora da configuração de equilíbrio. Assim para atingir seu estado fundamental é necessário emitir a energia excedente sob a forma de radiação gama (OKUNO, 2013), conforme o exemplo:

Primeiro o núcleo do ^{60}Co decai para o ^{60}Ni , pelo decaimento beta de um elétron de 0,31 MeV. Em seguida o ^{60}Ni decai para o seu estado fundamental através da emissão de raios gama seguidos consecutivos de 1,17 MeV e 1,33 MeV.



Os efeitos da radiação nos sistemas biológicos ocorrem em níveis atômicos. Quando os átomos das biomoléculas são ionizados podem ocorrer alterações moleculares, gerando moléculas anômalas. Estas alterações moleculares podem ocorrer por efeito direto, na molécula alvo modificando-a, ou indireto, decorrente da radiólise da água. Neste processo ocorre uma desestruturação da molécula de água formando radicais livres. Estes radicais são altamente reativos e disputam elétrons com as biomoléculas da vizinhança modificando-as (NOUAILHETAS, 2003).

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é uma das moléculas responsável pela informação genética da célula. Ao interagir com o DNA, as radiações podem provocar lesões, como as quebras simples e duplas da molécula, ligações cruzadas (DNA-DNA, DNA-proteínas), alterações dos açúcares ou em bases nitrogenadas (substituição ou deleção) (TAHUATA, et al., 2003). Assim, estas alterações podem provocar diversos efeitos ou nenhum, a depender da capacidade celular de reparo das quebras e da fidelidade do reparo das fitas (SEGRETO; SEGRETO, 2003).

Quando o mecanismo celular de reparo não é eficiente, a célula pode morrer ou podem ocorrer alterações do material genético da célula sobrevivente, resultando em efeitos adversos. Nos cromossomos a RI pode gerar aberrações como: fragmentos acêntricos, dicêntricos e anéis (aberrações cromossômicas instáveis) e translocações e inversões (aberrações cromossômicas estáveis) (ELKIND, 1985; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2000).

As células que apresentam uma grande atividade mitótica e um baixo grau de diferenciação são mais sensíveis à radiação (BERGONIÉ; TRIMBONDEAU, 1906). Assim, os efeitos da radiação variam de acordo com o metabolismo de cada tipo celular.

A mitose é umas das fases mais sensíveis à radiação no ciclo celular. Nesta fase existe uma grande probabilidade de que as lesões provocadas pela RI persistam pelas gerações. Este fato ocorre, provavelmente, devido ao alto grau de condensação do material genético, assim as enzimas de reparo não poderão ter acesso ao DNA fortemente ligado à matriz proteica (DEWEY; NOEL; DETTOR, 1972).

A radiação provoca retardo nas fases G2/M. Este retardo deve estar associado às atividades de reparo das lesões provocadas pela radiação; uma vez que foi observado que a falta do retardo em G2 está associado ao aumento da

radiossensibilidade. Ocorre também o retardo em G1/S. O retardo em G1 após a lesão radioinduzida do DNA está associado à presença das proteínas p53 e p21, podendo resultar em reparo do DNA ou morte celular por apoptose (MUNRO, 1970; ELKIND, 1985; EL-DEIRY, 1993; DEWEY; NOEL; DETTOR, 1972).

Um dos importantes mecanismos que a radiação induz é a apoptose por meio das quebras do DNA, induzindo a expressão da p53, que por sua vez atua como fator de transcrição e induz a produção de proteínas como a proteína associada a bcl2 (BAX), desencadeando o processo de apoptose (KEURBITZ, 1992). Os fatores de crescimento e o sistema de transdução, como por exemplo, a proteína quinase C (PKC) e proteína quinase A (PKA) são importantes na modulação do processo. A via da PKC relaciona-se com a inibição da apoptose e da PKA com a sua ativação (EL-DEIRY, 1993; DEWEY; NOEL; DETTOR, 1972).

Doses baixas de radiação induzem apoptose e doses altas induzem necrose. Observou-se que em linfócitos, doses baixas (0,05 Gy) e moderadas (1 a 5 Gy) levam à morte por apoptose, ao passo que após doses altas (20 Gy) ocorre a morte não apoptótica. As doses altas de radiação inibem qualquer processo ativo na célula, inclusive a apoptose (EL-DEIRY, 1993).

No campo da física médica a dosimetria corresponde ao cálculo da variação da dose de radiação recebida pelo corpo humano. O conhecimento da dose é muito importante, em termos de proteção contra as radiações, para trabalhadores que se expõem rotineiramente às radiações, sendo necessário o controle para que os níveis regulamentados de exposição não sejam ultrapassados (SECO; CLASIE; PARTRIDGE, 2014).

Os trabalhadores que rotineiramente são expostos à RI tem a dose absorvida monitorada através de um dosímetro físico. Normalmente estes aparelhos possuem um filme fotográfico, TLD (Dosímetros termoluminescentes), semicondutores, ou câmeras de ionização que foram desenvolvidos para indicar a dose total absorvida, tanto diretamente ou por modelos numéricos (AMARAL; FERNANDES; CAVALCANTI, 2008). De acordo com a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP), estes dosímetros individuais devem ser usados sobre a região do órgão de representação da sua exposição, assumindo a exposição de corpo inteiro (VALENTIN, 2007).

Todavia, em casos de exposições acidentais às RI a dosimetria física é algo que não pode ser diretamente realizada para estimar as doses recebidas no passado. Assim, através da biodosimetria, é possível estimar as doses de radiação que um indivíduo recebeu no passado através de medições feitas em seu material biológico (AMARAL; FERNANDES; CAVALCANTI, 2008).

Os biomarcadores devem ser altamente sensíveis e específicos à radiação. É um requisito fundamental que afira alteração física ou biológica proporcionalmente à energia absorvida ao longo do tempo e específicos para diferentes tipos de RI, como: alfa, beta, gama. Sendo assim, podem permitir a estimativa razoavelmente precisa das décadas de dose absorvida após a exposição (SIMON; BOUVILLE; KLEINERMAN, 2010).

Muitos dos métodos têm sido aplicados para a estimação da dose recebida, como a dosimetria citogenética, ressonância paramagnética eletrônica, dentre outros. A dosimetria citogenética é um dos principais métodos de biodosimetria, é possível utilizar técnicas como: cromossomos dicêntricos, hibridização fluorescente *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization - FISH), condensação prematura de cromossomo (*Premature chromosome condensation* – PCC) (SIMON; BOUVILLE; KLEINERMAN, 2010).

A técnica de cromossomos dicêntricos tem sido utilizada por muitas décadas para estimar a dose absorvida em acidentes nucleares. Neste método é possível identificar os linfócitos em metáfase analisando a presença de cromossomos fragmentos acêntricos. Com base nas curvas de calibração produzida a partir de exposições *in vitro*, uma estimativa da dose pode ser feita de acordo com o número de anéis e dicêntricos presente na célula. Este método é bem aceito como método específico e sensível para determinação de doses recentes, em um intervalo de dias à cerca de seis meses. Uma desvantagem da técnica de cromossomos dicêntricos é que o dano é instável e pode ser eliminado dos linfócitos presentes no sangue periférico. Aberrações estáveis podem ser mensuradas através da técnica de FISH (PINKEI et al., 1988), onde o DNA dos cromossomos é marcado com técnicas de fluorescência específicas.

Atualmente existe um grande interesse em técnicas de biodosimetria que possam ser úteis imediatamente após eventos de exposição de massa (ALEXANDER

et al., 2007). Além do mais foi reportado na literatura que a atividade elétrica cortical pode ser um indicativo de exposição as radiações (LOGANOVSKY; YURYEV, 2001). Diante disso, faz-se necessário uma breve revisão sobre o sistema nervoso.

2.3 Sistema Nervoso

O Sistema nervoso é um conjunto de órgãos responsáveis pela transmissão de sinais para as diferentes partes do corpo. Estes sinais são responsáveis pelo controle das atividades corporais, tais como a secreção de hormônios, contração de músculos esqueléticos e lisos (ABOITIZ, 1999; DOUGLAS; MARTIN, 2004).

O Sistema Nervoso pode ser dividido em Sistema Nervoso Central (SNC) e em Sistema Nervoso Periférico (SNP). O SNC inclui o encéfalo e a medula espinal. Enquanto que SNP é constituído pelos nervos e gânglios que fornecem ao SNC informações dos órgãos receptores através de vias sensórias aferentes e executam os comandos enviados pelo SNC através das vias eferentes ou motoras (LENT, 2003). Notar na Figura 2 o sistema nervoso humano.

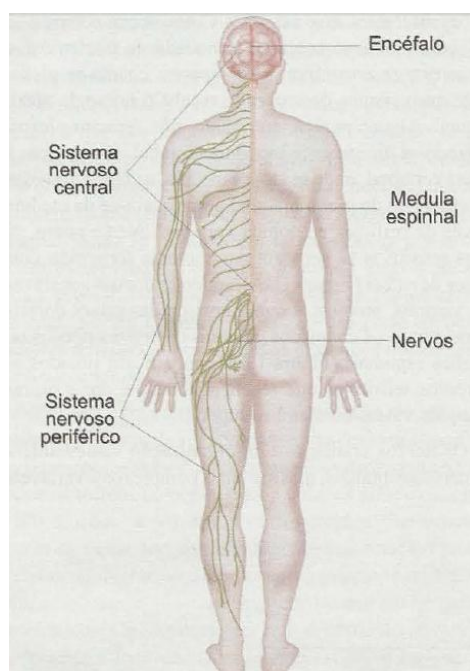


Figura 2. Divisão do sistema nervoso humano (Fonte: LENT, 2003, p.8).

Frequentemente, a medula espinal é vista apenas como uma via de sinais oriundo do encéfalo para a periferia do corpo ou no sentido oposto, da periferia do corpo para o encéfalo. Muito além de ser apenas uma via; a medula assume muitas

funções altamente organizadas. Por exemplo, os circuitos neuronais intrínsecos da medula podem ser responsáveis por movimentos de marcha; reflexos que afastam parte do corpo de objetos que causam dor; reflexos que enrijecem as pernas para que sustentem o corpo contra a gravidade; além disso, reflexos que controlam os vasos sanguíneos locais, movimentos gastrointestinais ou excreção urinária (GUYTON; HALL, 2006).

As áreas subcorticais incluem a medula oblonga, ponte, mesencéfalo, hipotálamo, tálamo, cerebelo e gânglios da base. Essas áreas controlam a maior parte das atividades subconscientes do corpo. As outras funções a serem executadas são controladas pelo córtex cerebral (MACHADO, 2000).

O córtex é uma região que sempre está associada com as estruturas subcorticais do SNC. 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 (DOUGLAS; MARTIN, 2004).

A unidade fundamental do sistema nervoso é o neurônio (Figura 3). Ele garante que o sistema nervoso seja um centro de integração entre as diversas partes do organismo. Esta característica se deve a sua alta excitabilidade e a capacidade de conduzir e interpretar os impulsos elétricos provenientes de todas as regiões do organismo (LENT, 2003).

O número estimado de neurónios no cérebro humano é na ordem de 10^{11} e o número de sinapses é da ordem de 10^{14} . Isso faz do sistema nervoso uma rede muito complexa de células especializadas no constante envio e recepção de sinais. Assim, esta rede é dividida anatomicamente em sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) (LENT, 2003).

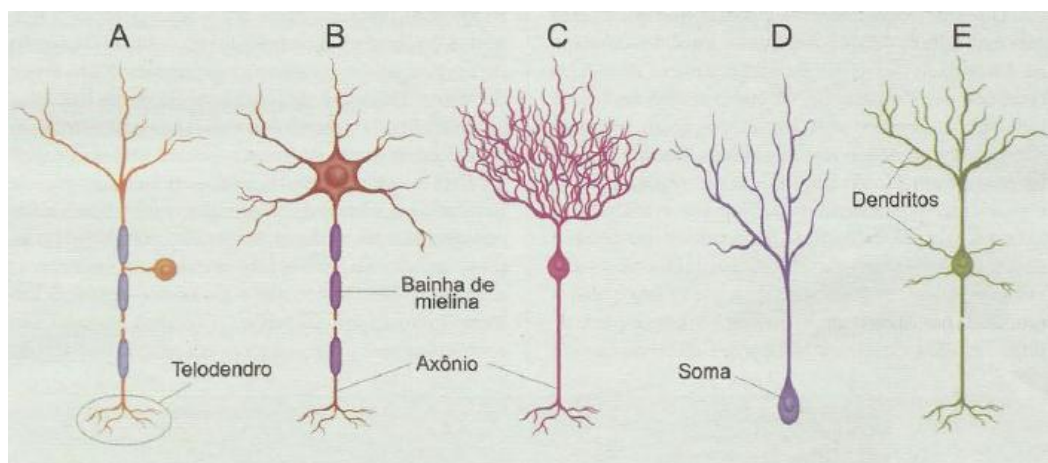


Figura 3. Imagem representativa de neurônios com diversos tipos morfológicos, localizados em diferentes regiões do sistema nervoso: pseudounipolar (A), estrelado (B), de Purkinje (C), unipolar (D) e piramidal (E). (Fonte: LENT, 2003, p. 17).

Em uma sinapse, a membrana plasmática do neurônio pré-sináptico está conectada com a membrana da célula pós-sináptica. Entre as duas membranas existem formas distintas para a transmissão de um sinal. Assim, as sinapses podem ser classificadas em químicas e elétricas. Na sinapse química (Figura 4), o neurônio pré-sináptico libera um neurotransmissor que se liga a receptores localizados na célula pós-sináptica. Já na sinapse elétrica, as membranas pré-sinápticas e pós-sinápticas estão ligadas por canais, que são capazes de passar corrente elétrica, portanto, variações de voltagem na célula pré-sináptica podem induzir alterações de voltagem na célula pós-sináptica. O tipo de sinapse mais frequente é a química, apesar de não serem tão rápidas como as elétricas (SÜDHOF, 2012).

Na sinapse elétrica, as membranas pré-sinápticas e pós-sinápticas são conectadas por *gap junctions*, que são conexões formadas por conexinas. Estas conexinas funcionam como um canal de condução da corrente elétrica, tornando a transmissão do sinal mais rápida (SAEZ et al., 2003). Além disso, o espaço entre as membranas na sinapse elétrica é menor, com cerca de 3,5 nm de distância; enquanto que na sinapse química é de 20-40 nm (HORMUZDI et al., 2004).

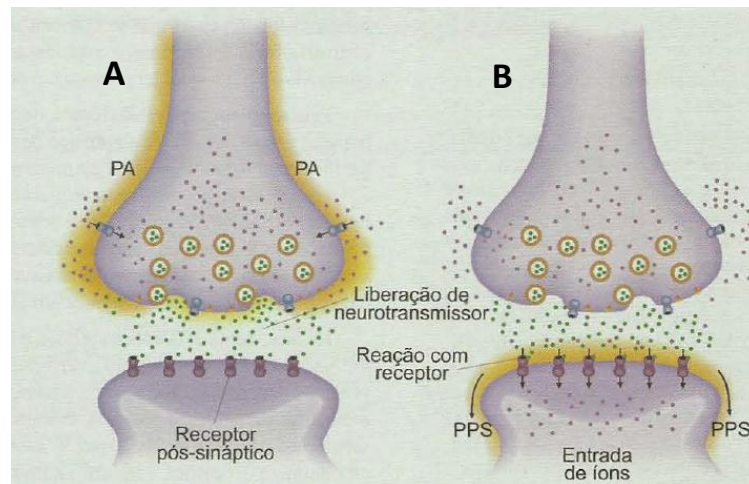


Figura 4. Representação de uma sinapse química. (A) Após a chegada do potencial de ação (PA), o neurotransmissor liberado na fenda sináptica difunde-se até os receptores situados na membrana pós-sináptica. (B) A reação do neurotransmissor com os receptores provoca a abertura dos canais iônicos e a entrada de cátions, resultando em um potencial pós-sináptico (PPS) (Fonte: LENT, 2003, p.128).

Durante o processo de comunicação celular, os neurônios produzem uma multiplicidade de sinais elétricos que codificam e transferem informações (BRESSLER; KELSO, 2001). Essa capacidade de gerar e produzir impulsos elétricos se expressa em um potencial de ação (DAVID et al., 2008).

O potencial de ação corresponde a uma inversão do potencial de repouso que percorre a membrana de uma célula. O potencial de repouso é resultado da separação de cargas iônicas através da membrana. A separação de cargas gera uma diferença de voltagem, denominada de potencial de repouso (V_m), que em neurônios é em neurônios é cerca de -60 a -70 mV (KANDEL, 2000).

O potencial de ação tem duração de poucos milissegundos, neste período é possível observar uma fase ascendente, uma fase descendente e, ainda, uma curva de tensão elétrica inferior à do potencial de repouso de membrana (KRUEGER-BECK et al., 2011).

A fase ascendente é denominada de despolarização. Ocorre pela entrada de íons de sódio para o interior da membrana. No potencial de repouso é possível observar que vários canais de sódio, dependente de voltagem, estão fechados. Com um estímulo, os canais de sódio, dependente de voltagem, começam a se abrir e aumentar a permeabilidade de sódio conduzindo o potencial de membrana para cerca

de 60 mV. A elevação do potencial de membrana estimula ainda mais a abertura de canais de sódio (KRUEGER-BECK et al., 2011).

Assim, durante o pico do potencial de ação, a permeabilidade do sódio é máxima. Neste momento o potencial de membrana já encontra-se invertido. A voltagem elevada provoca uma lenta inativação dos canais de sódio reduzindo a permeabilidade da membrana ao sódio em relação ao potássio e conduzindo o potencial da membrana de volta ao potencial de repouso. Ao mesmo tempo, a tensão elevada abre os canais de potássio sensíveis à voltagem, aumentando a permeabilidade da membrana ao íon potássio. Este conjunto de alterações na permeabilidade do Na^+ e K^+ fazem com que o potencial de membrana volte ao potencial de repouso, sendo denominado de repolarização (KANDEL, 2000).

Cada potencial de ação é seguido por um período refratário, que pode ser dividido em absoluto e refratário. O período refratário absoluto ocorre quando é impossível evocar um outro potencial de ação e logo em seguida vem o período refratário, quando é necessário um estímulo mais forte do que o usual para evocar um outro potencial de ação. Estes dois períodos refratários são oriundos de mudanças dos estados dos canais de sódio e potássio. Logo após o potencial de ação dos canais de potássio estão inativados, devido a repolarização, e não podem mudar de estado independentemente do potencial de membrana, dando origem ao período refratário absoluto (KRUEGER-BECK et al., 2011).

2.4 Gênese do EEG

Utilizando eletrodos de superfície posicionados sobre o couro cabeludo é possível captar os potenciais elétricos gerados pelas células nervosas intracranialdo SNC. Assim é possível registrar as mudanças de voltagem destes potenciais através do EEG.

Um dos primeiros estudos que comprovaram a geração de atividade elétrica do cérebro foi feito por Hans Berger. Berger (1929) fazia registros com eletrodos colocados sobre o couro cabeludo e conectados a um galvanômetro, que ampliava a amplitude do sinal em milhares de vezes. Após alguns anos de observações percebeu-se que a atividade era cíclica e propôs que o EEG poderia ser reconstruído a partir do somatório de várias ondas senoidais (TUDOR; TUDOR; TUDOR, 2005). Esta hipótese deu origem à divisão do EEG em bandas de frequência, definidas como

delta (0,5 – 4 Hz), teta (4 – 8 Hz), alfa (8 – 13 Hz) e beta (13 – 35 Hz), conhecidas também como os ritmos do EEG, ou ondas cerebrais. Estas frequências clinicamente relevantes encontra-se entre 0,5 e 70 Hz (BUZSÁKI, 2006).

O ritmo delta é o mais lento dentre os citados, podem ocorrer no córtex ou no tálamo. No córtex o núcleo supraquiasmático é o responsável pela geração das ondas deltas, uma vez que resultados tem mostrado que perturbações nas atividades destas ondas foram encontradas quando provocadas lesões nesta área. Além do mais existe uma dominância de ondas deltas no hemisfério direito durante o sono (HOBSON; PACE-SCHOTT, 2002).

O ritmo teta pode tanto ser registrado em eletrodos de superfície como de potenciais de campo. Um dos principais geradores do ritmo teta é o hipocampo. O ritmo teta hipocampal depende criticamente de projeções da área septal medial, que por sua vez, recebe entrada do hipotálamo e várias áreas do tronco cerebral. Em morcegos, as ondas teta aparecem em rajadas associadas à ecolocalização. Em seres humanos e outros primatas, o ritmo teta do hipocampo é difícil de ser observado (BUZSÁKI, 2006).

A função do ritmo teta hipocampal não está claramente entendida. Um dos primeiros grandes estudos deste fenômeno foi identificar que o teta hipocampal normalmente ocorre junto com EEG dessincronizado no neocórtex, sendo proposto que deve estar relacionado com a excitabilidade desta região (GREEN; ARDUINI, 1954). Outros trabalhos mostram uma forte relação entre a onda teta e o comportamento motor, estando relacionada com o processamento sensório-motor (VANDERWOLF, 1969). Outros grupos de pesquisadores sugerem que teta é parte do mecanismo que animais usam para manter o controle de sua localização dentro do ambiente (HASSELMO; EICHENBAUM, 2005). As teorias mais populares, no entanto, vinculam o ritmo teta aos mecanismos de aprendizagem e memória (VERTES, 2005).

Ritmos teta corticais observados no EEG no couro cabeludo humano são um fenômeno diferente, sem relação clara com o hipocampo. Em estudos de EEG humanos, o ritmo teta refere-se a componentes de frequência na faixa de 4-7 Hz independentemente da sua fonte. O teta cortical é observado com frequência em crianças pequenas. Em crianças mais velhas e adultos, tende a aparecer durante

estados meditativos, sonolentos ou dormindo, mas não durante os estágios mais profundos do sono. Várias enfermidades cerebrais podem dar origem a ondas teta corticais anormalmente fortes ou persistentes (BUZSÁKI, 2006).

É possível encontrar o ritmo alfa em três estados distintos no ciclo sono-vigília. O estado mais comum é encontrado em maior intensidade em pessoas normais sem realizar nenhuma atividade e com os olhos fechados. Esta atividade é facilmente localizada no lobo occipital e sugere-se que tenha origem nesta região, contudo existem trabalhos que sugerem que tenha origem talâmica (DOMINO et al., 2009).

A segunda forma de atividade, da onda alfa, ocorre durante o sono REM (*rapid eye movement*). A atividade é localizada na parte frontal do cérebro e sua ocorrência não é bem compreendida (JENSEN; KAISER; LACHAUX, 2007).

A terceira ocorrência de atividade de ondas alfa é o alfa-delta ou estado de ondas lentas (slow-waves - SWS). Esta atividade se espalha por todo o cérebro em um gradiente ântero-posterior (PIVIK; HARMAN, 1995).

O ritmo beta pode ser melhor visualizado nas regiões frontal e parietal. São divididas em dois grupos beta I (14 a 17 Hz) e beta II (18 a 30 Hz). A beta I são inibidas pelo esforço mental e atenção, já as ondas beta II são ativas durante um estado de tensão (BROVELLI et al., 2004).

2.5 Complexidade & Cérebro

O cérebro é um sistema físico-químico que opera simultaneamente em vários níveis (SKARDA; FREEMAN, 1990). Desde o pioneiro trabalho de Ramón y Cajal (1991) os neurônios são considerados as estruturas constituintes fundamentais do cérebro. E desde então pesquisadores acreditavam que podiam entender o funcionamento do cérebro a partir do monitoramento de neurônios individuais. Assim existiu uma tentativa de correlacionar o registro de potências de ação de células unitárias com determinados comportamentos (BARLOW, 1972).

A dinâmica neural é decorrente de uma grande rede de neurônios, altamente complexa, que é responsável pela dinâmica da atividade fisiológica, e assim muitas regiões cerebrais distintas, podem estar envolvidas em uma rede funcional. Essas redes são formadas para proporcionar a base fisiológica do processamento de informações e representações mentais (BUZSÁKI, 2006).

A dinâmica dos sistemas neuronais pode ser vista como uma sucessão de padrões espaço-temporais transitórios que medeiam a integração entre os sistemas de percepção e sensitivos. Tal integração é moldada pela infraestrutura anatômica cerebral formadas por variadas conexões, que ao longo do tempo foram selecionadas, adaptativamente, para garantir a dinâmica que se seguem. As medidas de atividade cerebral só são significativos quando especificado ao longo de períodos de tempo (FRISTON, 2001).

Assim as análises de séries temporais biológicas representam a dinâmica destes sistemas tipicamente complexos. Vários recursos têm sido propostos para detectar propriedades dinâmicas dos fenômenos fisiológicos, principalmente utilizando ferramentas no EEG (ANDRZEJAK et al., 2001).

A complexidade do cérebro parte desde sua unidade morfológica-funcional, o neurônio. Assim a estrutura deste órgão é altamente complexa, pois é formado de uma rede de neurônios que interagem tantos com vizinhos próximos como remotos. Assim o EEG tem sido utilizado para registrar a atividade elétrica dos neurônios. Ele é constituído pelos somatórios de várias potências locais de campos (LFP, do inglês *local potential field*), que são captados pelos eletrodos inseridos no escalpo (BÉDARD; KRÖGER; DESTEXHE, 2004).

O EEG tem servido como método para avaliar as propriedades não lineares do cérebro. Muitos estudos são reportados na literatura, mostrando que técnicas de dinâmica não linear foram aplicados a diferentes tipos de estudos em EEG, inclusive em humanos tais como: registro da atividade de voluntários saudáveis (JEONG; KIM; KIM, 1999; STAM, 2005), sono (FELL; RÖSCHKE; SCHÄFFNER, 1996), anestésico (AGUIAR; PESSOA; NOGUEIRA, 2014; WIDMAN et al., 2000), ou a partir de pacientes com doenças como a doença de Alzheimer (JEONG, 2004; JEONG et al., 2001), depressão (HOSSEINIFARD; MORADI; ROSTAMI, 2013; OLBRICH et al., 2014), esquizofrenia (CHEN et al., 2013).

Atualmente as pesquisas sobre sistemas neurais e funções superiores do cérebro estão sendo realizados, cada vez mais, pela combinação da neurociência clássica (às vezes chamado reducionista) com a ciência não-linear (KORN; FAURE, 2003). As primeiras aplicações de análise não linear ao EEG datam de 1985, quando

Rapp e colaboradores descreveram seus resultados da análise caótica da atividade neuronal espontânea no córtex motor de macaco (RAPP et al., 1985).

A sincronização de sistemas dinâmicos é uma das ferramentas mais importante para a análise não-linear do EEG (VAN STRAATEN; STAM, 2013). Este fenômeno foi identificado por Huyens quando observou que dois relógios pendurados no mesmo muro tendiam a sincronizar o movimento de seus pêndulos exatamente em fase (ZHIROV; SHEPELYANSKY, 2006), surgindo os primeiros estudos de dinâmica não-linear.

Henri Poincaré estudou a estabilidade do Universo utilizando um modelo de atração gravitacional entre três corpos, que identificou que diferenças mínimas nas condições iniciais produzem grandes diferenças no final (BAHRI; RABINOWITZ, 1991).

Somente em 1963 os trabalhos de Lorenz foram marcantes para caracterizar a sensibilidade às condições iniciais em um sistema. Seus estudos foram marcantes para entender que em um sistema determinístico, como problemas atmosféricos, podem se tornar imprevisíveis pela impossibilidade de se ter uma total compreensão das condições iniciais (SAVI, 2005).

O caos como uma ciência moderna que estuda o comportamento estocástico de sistemas determinísticos. Os sistemas caóticos são caracterizados por possuírem sensibilidade às condições iniciais, logo o comportamento do sistema pode ser drasticamente alterado com pequenas perturbações (SAVI, 2005).

Os primeiros estudos que aplicavam ferramentas não lineares ao EEG procuravam identificar a dinâmica caótica em distintos tipos de sinais do EEG, tendo muitos resultados sido contestado após a introdução de métodos *surrogate test* para verificar a validade dos dados (STAM, 2005). Assim a análise não linear do EEG redirecionou seu foco em duas direções: a primeira é a detecção, caracterização e modelagem de dinâmica; a segunda, ao desenvolvimento de novos métodos não-lineares, capazes de serem aplicados, adequadamente, em séries temporais ruidosas e não estacionárias, como o EEG. Assim novos horizontes foram traçados para compreensão do EEG. Vários métodos de dinâmica não linear foram propostos para descrever a dinâmica do EEG, tais como, a dimensão de correlação, o expoente de Lyapunov, Entropia aproximada, Complexidade de Lempel-Ziv e DFA (ANDRZEJAK

et al., 2001; HUANG et al., 2014; LIANG et al., 2014a, 2014b; STAM, 2005; YEH et al., 2013).

2.6 Radiação & Cérebro

As células nervosas maduras possuem um estado pós-mitótico fixo e são altamente especializadas; portanto, de acordo com a lei da radiosensibilidade de Bergonie e Tribondeau (1906) essas células são resistentes à radiação ionizante (NYAGU e LOGANOVSKY, 1998). Doses de 10 a 40 Gy podem iniciar injúrias no tecido nervoso. Já doses elevadas de 50 a 300 Gy induzem a necrose do tecido, onde sinais dos danos já aparecem nos primeiros dias ou mesmo horas (GRIGORJEV, 1963; GUSKOVA et al., 1987).

Exposições com doses de 15 a 30 Gy provocam necrose no sistema nervoso central, especificamente em regiões de substância cinzenta. Doses de 4 a 6 Gy ainda provocam graves danos ao cérebro, ocorrendo a desmielinização, principalmente no tronco e na medula, proliferação anormal de astrócitos e glias, além da degeneração de oligodendrócitos (PORTUGALOV, 1954).

Doses inferiores a 2Gy são consideradas seguras para o sistema nervoso central (SNC), em dose única ou fracionada. (VAN DER KOGEL, 1986; 1991). No tratamento de radioterapia, considera-se tolerável na região da cabeça doses de 55 Gy fracionada por 5,5 semanas e 65 Gy durante 6,5 semanas. Na medula espinhal as doses variam entre 35 Gy em 4 semanas e 50 Gy por 5 semanas nas regiões cervical e lombar, além de 45 Gy para 4,5 semanas na região torácica. A probabilidade de ocorrerem danos devido à radiação aumenta quando o valor da fração é elevado, pois o organismo tem menos tempo para se recuperar (BADMAJEV e SMIRNOVA, 1982; SCHULTHEISS et al., 1995).

O SNC se desenvolve rapidamente desde o nascimento da criança até os 6 anos de idade. Durante o processo de desenvolvimento, o tecido cerebral é mais sensível à radiação ionizante, assim, um possível tratamento radioterápico durante a infância pode influenciar o desenvolvimento do SNC em maior grau (FITZGERALD et al., 2006). Recentemente, foram encontradas reduções da neurogênese no hipocampo após a irradiação. Esta diminuição é resultante da morte de células tronco por apoptose, uma vez que estas células são altamente sensíveis à radiação (MONJE;

PALMER, 2003). A RI também pode desenvolver deficiências cognitivas devido a danos em populações de células existentes na zona subgranular do hipocampo (ANDRES-MACH; ROLA; FIKE, 2008).

Um fator limitante durante as seções de radioterapia, no cérebro, são as lesões teciduais que podem ocorrer, quando este órgão é exposto a grandes doses. Para evitar uma grande exposição à radiação é usado o protocolo de fracionar doses, evitando, assim, reações adversas em termos de declínio cognitivo após baixas doses. Relatos mostram a presença de déficit de memória em seres humanos, ao receberem doses de radiações ionizantes, principalmente, quando associados a estresses ambientais (MEYERS; BROWN, 2006).

Alguns casos de amnésia retrógrada aguda foram relatados por pessoas que sobreviveram a bomba de Hiroshima (BOGO, 1984). Cinco anos depois da bomba foram observados déficits de memória e da capacidade intelectual em indivíduos que tiveram síndrome da radiação. Estes dados são consistentes com outros estudos, relatando déficits de memória em pacientes humanos que haviam sido submetidos à radioterapia (OBENAUS; MICKLEY, 2012).

Enquanto alterações macroscópicas (mielopatia devido a radiação) são facilmente observáveis somente após exposições a altas doses de radioterapia (acima de 60 Gy no fracionamento convencional), doses mais baixas podem, no entanto, levar à disfunção cognitiva sem induzir alterações morfológicas significativas (LOGANOVSKY; LOGANOVSKAJA, 2013). Tais alterações, muitas vezes, podem estar relacionadas com déficits nas funções dependentes do hipocampo, como: aprendizagem, memória e processamento de informações espaciais (MEYERS; BROWN, 2006; MIZUMATSU et al., 2003; RABER, 2010; RABER et al., 2004). Alguns estudos sugerem que a disfunção cognitiva, incluindo demência, pode ser observado em 20-50% dos sobreviventes de tumores cerebrais, com idade superior a 50 anos, tratados por radioterapia por um longo período (OBENAUS et al., 2012). Os déficits neurológicos de doses elevadas são prejudiciais em longo prazo e devem estar associados a desmielinização, perda neural e deficiências cognitivas. Alguns desses defeitos cognitivos têm sido observados como consequência da alteração da neurogênese após a exposição ao RI (LOWE et al., 2009).

Estudos mostram que indivíduos que trabalharam na contenção da radiação durante o acidente de Chernobyl apresentaram alteração na atividade nas ondas beta e delta, além de começarem a apresentar indício de esquizofrenia, sugerindo que essas alterações foram causadas pela exposição à radiação ionizante. Portanto, a radiação ionizante pode ser a causa de distúrbios neuropsicofisiológicos (LOGANOVSKY; YURYEV, 2001).

Segundo Loganovsky e Yuryev (2001), a alteração da onda alfa pode ser um biomarcador da exposição à radiação ionizante, especialmente em casos de acidentes nucleares. Contudo, neste contexto, um dos casos de grande dúvida seria a possível alteração da dinâmica das ondas cerebrais em função de um trauma psicológico sofrido ao sofrer um acidente nuclear e não devido aos efeitos da radiação no sistema nervoso.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da exposição de ratos adultos à 18 Gy de radiação gama sobre a atividade elétrica cortical utilizando métodos de dinâmica linear e não-linear.

3.2 Objetivos específicos

1. Registrar a atividade elétrica cortical de ratos com um dia e com noventa dias após a exposição à radiação gama;
2. Expor os animais à uma dose de 18Gy, que é uma dose equivalente a dose utilizada para pacientes que passam por tratamento radioterápico de cabeça-pescoço;
3. Utilizar métodos matemáticos e computacionais para analisar padrões eletroencefalográficos de ratos expostos à radiação ionizante;
4. Identificar possíveis biomarcadores de exposição cerebral à radiação ionizante com base em métodos linear e não linear.

4. REFERÊNCIAS

ABÁSULO, D. et al. A study on the possible usefulness of detrended fluctuation analysis of the electroencephalogram background activity in Alzheimer's disease. **IEEE transactions on bio-medical engineering**, v. 55, n. 9, p. 2171–9, set. 2008.

ABOITIZ, F. Feature Article: Evolution of Isocortical Organization. A Tentative Scenario Including Roles of Reelin, p35/cdk5 and the Subplate Zone. **Cerebral Cortex**, v. 9, n. 7, p. 655–661, 1 out. 1999.

AGUIAR, L. A. A.; PESSOA, D. T.; NOGUERIA, R. A. 001 — (AGU0031) Lempel–Ziv complexity as a parameter to identify sedation in rats. **Epilepsy & Behavior**, v. 38, p. 181, set. 2014.

ALEXANDER, G. A. et al. BiodosEPR-2006 Meeting: Acute dosimetry consensus committee recommendations on biodosimetry applications in events involving uses of radiation by terrorists and radiation accidents. **Radiation Measurements**, v. 42, n. 6–7, p. 972–996, jul. 2007.

AMARAL, A.; FERNANDES, T. S.; CAVALCANTI, M. B. Bioindicators in radiation protection. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. spe, p. 91–96, dez. 2008.

ANDRES-MACH, M.; ROLA, R.; FIKE, J. R. Radiation effects on neural precursor cells in the dentate gyrus. **Cell and tissue research**, v. 331, n. 1, p. 251–62, jan. 2008.

ANDRZEJAK, R. et al. Indications of nonlinear deterministic and finite-dimensional structures in time series of brain electrical activity: Dependence on recording region and brain state. **Physical Review E**, v. 64, n. 6, p. 061907, nov. 2001.

BADMAJEV, K. N.; SMIRNOVA, R. V. **Radionuclide diagnostic and radiation therapy in nervous system diseases**. Moscow, 1982.

BAHRI, A.; RABINOWITZ, P. H. Periodic solutions of hamiltonian systems of 3-body type. **Annales de l'institut Henri Poincaré (C) Analyse non linéaire**, v. 8, n. 6, p. 561–649, 1991.

BARLOW, H.B. Single units and sensation: A neuron doctrine for perceptual psychology? **Perception**, v. 1, n. 4, p. 371-394, 1972.

BÉDARD, C.; KRÖGER, H.; DESTEXHE, A. Modeling extracellular field potentials and the frequency-filtering properties of extracellular space. **Biophysical journal**, v. 86, n. 3, p. 1829–42, mar. 2004.

BERGER, H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. **Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten**, v. 87, n. 1, p. 527–570, dez. 1929.

BERGONIÉ, J.; TRIBONDEAU, L. Interpretation of some results from radiotherapy and an attempt to determine a rational treatment technique. 1906. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 76, n. 4-6, p. 181–2, jan. 2003.

BOGO, V. Effects of bremsstrahlung and electron radiation on rat motor performance. **Radiation research**, v. 100, n. 2, p. 313–20, nov. 1984.

BRESSLER, S. L.; KELSO, J. A. S. Cortical coordination dynamics and cognition. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 5, n. 1, p. 26–36, 1 jan. 2001.

BROVELLI, A. et al. Beta oscillations in a large-scale sensorimotor cortical network: directional influences revealed by Granger causality. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 26, p. 9849–54, 29 jun. 2004.

BUSHONG, S. C. **Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology, and Protection**. Mosby: St. Louis, ed. 10, 2012. 672p.

BUZSÁKI, G. **Rhythms of the Brain**. Oxford University Press, 2006.

CHEN, X. et al. Nonlinear dynamics of electroencephalography study in schizophrenic patients. **Chinese medical journal**, v. 126, n. 15, p. 2886–9, jan. 2013.

DANYSZ, J. On the action of rays and emanations emitted by radium on different tissues and different organisms. **Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie de Science**, v. 136, p. 1296, 1903.

DAVID, O. et al. Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. **PLoS biology**, v. 6, n. 12, p. 2683–97, 23 dez. 2008.

DAVIS, H.; DAVIS, P. A. The electrical activity of the brain its relation to physiological states and to states of impaired consciousness. **Research Publications Association for Research in Nervous Mental Diseases**, v. 19, p. 50, 1939.

DEWEY, W. C.; NOEL, J. S.; DETTOR, C. M. Changes in radiosensitivity and dispersion of chromatin during the cell cycle of synchronous Chinese hamster cells. **Radiat Res**, v. 52, p. 781-196, 1972.

DOMINO, E. F. et al. Tobacco smoking produces widespread dominant brain wave alpha frequency increases. **International journal of psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology**, v. 74, n. 3, p. 192–8, dez. 2009.

DOUGLAS, R. J.; MARTIN, K. A C. Neuronal circuits of the neocortex. **Annual review of neuroscience**, v. 27, p. 419–51, jan. 2004.

EL-DEIRY, W. S.; TOKINO, T.; VELCULESCU V. E. WAF1, a potent mediator of p53 tumor suppression. **Cell**, v. 75, p. 817-825, 1993.

ELKIND, M. M. DNA damage and cell killing: cause and effect? **Cancer**, v. 56, p. 351-2363, 1985.

FELL, J.; RÖSCHKE, J.; SCHÄFFNER, C. Surrogate data analysis of sleep electroencephalograms reveals evidence for nonlinearity. **Biological Cybernetics**, v. 75, n. 1, p. 85–92, jul. 1996.

FITZGERALD, T. J.; ARONOWITZ, J.; GIULIA, C. M.; FISHER, G.; KADISH, S.; LO, Y. C.; MAYO, C.; MCCAULEY, S.; MEYER, J.; PIETERS, R.; SHERMAN, A. The effect of radiation therapy on normal tissue function. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 20, n. 1, p. 141-63, 2006.

FRISTON, K. J. Brain function, nonlinear coupling, and neuronal transients. **The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 7, n. 5, p. 406–18, out. 2001.

GARCIA, E. A. C. **Biofísica**. São Paulo: Editora Sarvier, 2002. 387p.

GREEN, J. D.; ARDUINI, A. A. Hippocampal electrical activity in arousal. **Journal of neurophysiology**, v. 17, n. 6, p. 533–57, nov. 1954.

GRIGORJEV, Y. G. **Radiation injuries and altered function compensation**. Moscow: Gosatomizdat, 1963. 204p.

GRUSELL, E. On the definition of absorbed dose. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 107, p. 131–135, fev. 2015.

GUSKOVA, A. K.; BARANOV, A. Y. E.; BARABANOVA, A. V. Acute radiation effects in survivors of the Chernobyl accident. **Medical Radiology**, v. 32, n. 12, p. 3–18, 1987.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2006.

HASSELMO, M. E.; EICHENBAUM, H. Hippocampal mechanisms for the context-dependent retrieval of episodes. **Neural networks: the official journal of the International Neural Network Society**, v. 18, n. 9, p. 1172–90, nov. 2005.

HOBSON, J. A.; PACE-SCHOTT, E. F. The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 3, n. 9, p. 679–93, set. 2002.

HORMUZDI, S. G.; FILIPPOV, M. A.; MITROPOULOU, G.; MONYER, H.; BRUZZONE, R. Electrical synapses: a dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. **Biochim Biophys Acta**, v. 1662, p. 113-137, 2004.

HOSSEINIFARD, B.; MORADI, M. H.; ROSTAMI, R. Classifying depression patients and normal subjects using machine learning techniques and nonlinear features from EEG signal. **Computer methods and programs in biomedicine**, v. 109, n. 3, p. 339–45, mar. 2013.

HUANG, R. et al. [Study on nonlinear dynamic characteristic indexes of epileptic electroencephalography and electroencephalography subbands]. **Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi = Journal of biomedical engineering = Shengwu yixue gongchengxue zazhi**, v. 31, n. 1, p. 18–22, fev. 2014.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). **Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies**. VIENNA: 2011. p. 247

JENSEN, O.; KAISER, J.; LACHAUX, J.-P. Human gamma-frequency oscillations associated with attention and memory. **Trends in neurosciences**, v. 30, n. 7, p. 317–24, jul. 2007.

JEONG, J. EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. **Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 115, n. 7, p. 1490–505, jul. 2004.

JEONG, J. et al. Nonlinear dynamic analysis of the EEG in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. **Journal of clinical neurophysiology: official publication of the American Electroencephalographic Society**, v. 18, n. 1, p. 58–67, jan. 2001.

JEONG, J.; KIM, M.; KIM, S. Test for low-dimensional determinism in electroencephalograms. **Physical Review E**, v. 60, n. 1, p. 831–837, jul. 1999.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J.C. **Biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 339p.

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

KEURBITZ, S. J.; PLUNKETT, S.; WALSH, W. V. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. **ProcNatlAcadSci USA**, v. 89, p. 7491–7495, 1992.

KIMIYAKI, H.; TAKATO, M.; FUMIYAKI, Y.; YASUSHI, M.; SHINJI, N.; AYUMI, S.; TOMIO, S. Correlation between scalp-recorded electroencephalographic and electrocorticographic activities during ictal period. **Seizure**, v. 16, n. 3, p. 238–247, 2007.

KORN, H.; FAURE, P. Is there chaos in the brain? II. Experimental evidence and related models. **Comptes rendus biologies**, v. 326, n. 9, p. 787–840, set. 2003.

KRUEGER-BECK, E. et al. Potencial de ação: do estímulo à adaptação neural. v. 24, n. 3, p. 535–547, 2011.

L'ANNUNZIATA, M. F. **Radioactivity: Introduction and History: Introduction and History**. Elsevier, 2007. p. 632

LAM, L. C.; LEUNG, S. F.; CHOW, L. Y. Functional experiential hallucinosis after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 64, n. 2, p. 259–61, fev. 1998.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. São Paulo: Artmed, 2003.

LESTAEVEL, P.; GRANDCOLAS, L.; PAQUET, F.; VOISIN, P.; AIGUEPERSE, J.; GOURMELON, P. Neuro-inflammatory response in rats chronically exposed to (137) Cesium. **Neurotoxicology**, v. 29, n. 2, p. 343 – 348, 2008.

LIANG, Z. et al. Detection of burst suppression patterns in EEG using recurrence rate. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 295070, jan. 2014a.

LIANG, Z. et al. Tracking the coupling of two electroencephalogram series in the isoflurane and remifentanyl anesthesia. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, 28 maio 2014b.

LOGANOVSKY, K. N.; YURYEV, K. L. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: part 1: conventional EEG analysis. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 13, n. 4, p. 441–58, jan. 2001.

LOGANOVSKY, K.; LOGANOVSKAJA, T. CORTICAL-LIMBIC NEUROGENESIS ASYMMETRY AS POSSIBLE CEREBRAL BASIS OF BRAIN LATERALITY FOLLOWING EXPOSURE TO IONIZING RADIATION. **Clinical Neuropsychiatry**, n. 10, p. 174, 1 jan. 2013.

LONDON, E. S. **On studies of Becquerel's rays and their pathological significance**. Berlin: Berlin ClinicalWeekly, 1903. 523p.

LOWE, X. R. et al. Early brain response to low-dose radiation exposure involves molecular networks and pathways associated with cognitive functions, advanced aging and Alzheimer's disease. **Radiation research**, v. 171, n. 1, p. 53–65, jan. 2009.

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

MEYERS, C. A.; BROWN, P. D. Role and relevance of neurocognitive assessment in clinical trials of patients with CNS tumors. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 24, n. 8, p. 1305–9, 10 mar. 2006.

MIZUMATSU, S. et al. Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation. **Cancer research**, v. 63, n. 14, p. 4021–7, 15 jul. 2003.

MONJE, M. L.; PALMER, T. Radiation injury and neurogenesis. **Current opinion in neurology**, v. 16, n. 2, p. 129–34, abr. 2003.

MUNRO, T. T.; The site of the target region for radiation-induced mitotic delay in cultured mammalian cells. **Radiat res**, v. 44, p. 747-457, 1970.

NOUAILHETAS, Y. **Radiações Ionizantes e a vida (Apostila Educativa)**. Rio de Janeiro: CNEN, 2003. 42p.

NYAGU, A.I.; LOGANOVSKY, K. N.; **Neuropsychiatric Effects of Ionizing Radiation**. Russian: Kiev, Publishing House Chernobyinterinform, 1998.

OBENAU, A. et al. Behavioral and neurophysiological consequences of radiation exposure. In: **Medical consequences of radiological and nuclear weapons**. Fort Detrick, MD: Borden Institute, 2012. p. 127–170.

OKUNO E. **Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia**. Estudos Avançados, v. 27(77), p. 185-199, 2013.

OLBRICH, S. et al. Functional connectivity in major depression: increased phase synchronization between frontal cortical EEG-source estimates. **Psychiatry research**, v. 222, n. 1-2, p. 91–9, 30 abr. 2014.

PIVIK, R.; HARMAN, K. A reconceptualization of EEG alpha activity as an index of arousal during sleep: all alpha activity is not equal. **Journal of sleep research**, v. 4, n. 3, p. 131–137, set. 1995.

PINKEL, D. et al. Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: detection of trisomy 21 and translocations of chromosome 4. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, n. 23, p. 9138–42, dez. 1988.

PIVIK, R.; HARMAN, K. A reconceptualization of EEG alpha activity as an index of arousal during sleep: all alpha activity is not equal. **Journal of sleep research**, v. 4, n. 3, p. 131–137, set. 1995.

PORTUGALOV, V. V. Radiation injuries of nervous tissue. **Proceedings All-Union Conference of Pathologists**, p. 328–331, 1954.

RABER, J. et al. Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis. **Radiation research**, v. 162, n. 1, p. 39–47, jul. 2004.

RABER, J. Unintended effects of cranial irradiation on cognitive function. **Toxicologic pathology**, v. 38, n. 1, p. 198–202, jan. 2010.

RAMÓN Y CAJAL, S. **Cajal's Degeneration and Regeneration of the Nervous System**, translated by RM May. New York: Oxford University Press, 1991.

RAPP, P. E. et al. Dynamics of spontaneous neural activity in the simian motor cortex: The dimension of chaotic neurons. **Physics Letters A**, v. 110, n. 6, p. 335–338, ago. 1985.

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.

SAVI, M. A. Chaos and order in biomedical rhythms. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 27, n. 2, p. 157–169, jun. 2005.

SCHULTHEISS, T. E.; KUN, L. E.; ANG, K. K.; STEPHENS, L. C. Radiation response of the central nervous system. **Int. J. Rad. Oncol., Biol. Phys**, v. 31, n. 5, p. 1093–1112, 1995.

SECO, J.; CLASIE, B.; PARTRIDGE, M. Review on the characteristics of radiation detectors for dosimetry and imaging. **Physics in medicine and biology**, v. 59, n. 20, p. R303–47, 21 out. 2014.

SEGRETO, H. R. C.; SEGRETO, R. A. Revisão e atualização em radiobiologia. Aspectos celulares, moleculares e clínicos. **Folha Medica**, v. 119, p.9-27, 2000.

SIMON, S. L.; BOUVILLE, A.; KLEINERMAN, R. CURRENT USE AND FUTURE NEEDS OF BIODOSIMETRY IN STUDIES OF LONG-TERM HEALTH RISK FOLLOWING. **Health Phys**, v. 98, n. 2, p. 109–117, 2010.

SKARDA, C. A.; FREEMAN, W. J. CHAOS AND THE NEW SCIENCE OF THE BRAIN. **Concepts in Neuroscience**, v. 1, n. 2, 1990.

STAM, C. J. Nonlinear dynamical analysis of EEG and MEG: review of an emerging field. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 116, n. 10, p. 2266–301, out. 2005.

SÜDHOF, T. C. The presynaptic active zone. **Neuron**, v. 75, n. 1, p. 11–25, 12 jul. 2012.

TAHUATA, L.; SALATI, I. P. A.; PRINZIO, R. D.; PRINZO, M. A. R. R. D. **Radiação e Dosimetria: Fundamentos**. Rio de Janeiro. IRD/CNEN, 2003. 139p.

TARKHANOV, I. R. About physiological action of Röntgen rays on the central nervous system. **Hospital Newspaper of Botkin**, v. 33, p. 753-785, 1896.

TUDOR, M.; TUDOR, L.; TUDOR, K. I. [Hans Berger (1873-1941)--the history of electroencephalography]. **Acta medica Croatica : časopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti**, v. 59, n. 4, p. 307–13, jan. 2005.

VALENTIN, J. ICRP Publication 103 The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. p. 1–34, 2007.

VAN DER KOGEL, A. J. **Central nervous system radiation injury in small animal models**. In: GUTIN, P. H.; LEIBEL, S. A.; SHELINE, G. E. Radiation injury to the nervous system. New York: Raven Press, 1991. 91–111p.

VAN DER KOGEL, A. J. Radiation-induced damage in the central nervous system: an interpretation of target cell responses. **Brit. J. Cancer**, v. 2, n. 53, p. 207–217, 1986.

VAN STRAATEN, E. C. W.; STAM, C. J. Structure out of chaos: functional brain network analysis with EEG, MEG, and functional MRI. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 7–18, jan. 2013.

VANDERWOLF, C. . Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 26, n. 4, p. 407–418, abr. 1969.

VAPAILLE, A.; BARBOTTIN, G.´R. **New Insulators Devices and Radiation Effects**. Amsterdã: Elsevier, 1999. p. 933

VERTES, R. P. Hippocampal theta rhythm: a tag for short-term memory. **Hippocampus**, v. 15, n. 7, p. 923–35, jan. 2005.

WIDMAN, G. et al. Quantification of depth of anesthesia by nonlinear time series analysis of brain electrical activity. **Physical Review E**, v. 62, n. 4, p. 4898–4903, out. 2000.

YEH, J.-R. et al. Investigating the interaction between heart rate variability and sleep EEG using nonlinear algorithms. **Journal of neuroscience methods**, v. 219, n. 2, p. 233–9, 15 out. 2013.

YURYEV, K. L. SPECIAL ARTICLE EEG Patterns in Persons Exposed to Ionizing Radiation as a Result of the Chernobyl Accident : Analysis. p. 441–458, 2001.

ZHIROV, O. V.; SHEPELYANSKY, D. L. Quantum synchronization. **The European Physical Journal D**, v. 38, n. 2, p. 375–379, 17 jan. 2006.

ZHUKOVSKY, M. O. About an influence of radium rays upon an excitability of psychomotor centres. **Review of Psychiatry, Neuropathology and Experimental Psychology**, v.11, p.801-811, 1903.

CAPÍTULO II

CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO ELETROCORTICOGRAMA COMO UM BIOINDICADOR DE EXPOSIÇÃO CEREBRAL À RADIAÇÃO IONIZANTE

**Artigo aceito para publicação no Periódico Brazilian Journal of Medical and
Biological Research.**

Correlação de longo alcance no eletrocorticograma como um bioindicador de exposição cerebral à radiação ionizante

L.A.A. Aguiar¹, I.M.S. Silva², T.S.Fernandes², R.A. Nogueira¹

¹ Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional (LABTEC), Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil;

E-mail: leandroalvaro@hotmail.com

² Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE,

Brazil, E-mail: isvania@gmail.com; thiagosalazar@hotmail.com

Agradecimentos

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e o Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) –UFRPE pelo suporte técnico.

Tipo de Manuscrito: artigo completo

Título curto: Bioindicador cerebral à exposição de radiação ionizante.

Palavra-Chave: Espectro de potencia; análise de flutuação destendenciada; radiação cerebral; radiação gama.

Autor de Correspondência: Dr. Romildo A. Nogueira

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife - PE, Brazil, Fone: 55 (81) 33206395, Fax: 55 (81) 3320-6076, e-mail: ran.pe@terra.com.br

RESUMO

Compreender os efeitos da radiação e sua possível influência sobre o sistema nervoso são de grande interesse clínico. No entanto, ainda são poucos os estudos eletrofisiológicos da atividade cerebral, após exposição a radiações ionizantes. Uma abordagem metodológica para avaliar os possíveis efeitos da radiação sobre a atividade do cérebro é o uso de métodos matemáticos lineares e não lineares na análise de séries temporais complexas oriundas das oscilações cerebrais, registradas em eletrocorticogramas (ECoG). Este trabalho tem como objetivo utilizar métodos matemáticos lineares e não lineares como biomarcadores de radiação gama sobre a atividade elétrica cortical. Os animais foram divididos em três grupos: um controle e dois irradiados, avaliados 24 horas (IR24) e 90 dias (IR90) após exposição à 18 Gy de radiação gama a partir de uma fonte de cobalto-60, a mesma utilizada na radioterapia. O ECoG foi analisado pelo método do espectro de potencia através do cálculo da energia do ritmo. Foram usados como parâmetros a potência para as ondas delta, teta alfa e beta do ECoG e pelos α -expoentes da Análise de Flutuação Destendenciada (DFA). Ambos os métodos matemáticos foram capazes de identificar alterações no ECoG, e foram capazes de identificar mudanças significativas no padrão do registro de 24 h após a irradiação. Algumas dessas mudanças foram persistentes 90 dias após a exposição à radiação ionizante. Em particular, a onda teta, em ambos os métodos, mostrou-se mais sensíveis em relação às outras ondas, o que sugere a sua escolha como um possível biomarcador de exposição à radiação ionizante.

INTRODUÇÃO

Os possíveis efeitos da radiação ionizante (RI) no sistema nervoso são de grande interesse clínico, uma vez que esta tecnologia é largamente aplicada em imagiologia cerebral, bem como no tratamento de tumores cerebrais (1). No entanto, os dados disponíveis sobre os danos provocados pela RI, em animais, nas estruturas morfológicas, funções neurofisiológicas e em suas repercussões comportamentais ainda não são conclusivos (2). Em exposições acidentais em seres humanos, como no caso de Chernobyl, foi identificado um aumento da incidência de esquizofrenia. Hipóteses sugerem que a radiação ionizante pode ser um gatilho para as pessoas que têm uma predisposição à esquizofrenia (3). No entanto, as bases neurofisiológicas não são bem compreendidas (1).

Desde as primeiras experiências radiobiológicas a sensibilidade do cérebro humano à radiação tem sido um ponto de debate (4). Evidências mostram alterações neurofisiológicas, significativas, às exposições a radiações ionizantes, tais como mudança nos padrões do eletroencefalograma (EEG), presença de ondas epileptiformes e distúrbios neuropsiquiátricos (5,6).

As exposições de doses entre 15 a 30 Gy provoca necrose no sistema nervoso central, especialmente em regiões de substância cinzenta. No entanto, doses mais baixas, de 4 a 6 Gy, são suficientes para causar danos cerebrais graves, tais como desmielinização, que ocorrem principalmente no tronco e na medula espinal, proliferação anormal de células da glia e degeneração dos astrócitos e oligodendrócitos (7).

A lei de BergoniéTribondeau (7) propôs que existem células que são mais (maior taxa proliferativa e indiferenciadas) e menos (menor taxa proliferativa e diferenciadas) sensíveis à radiação. O tecido nervoso é composto de células diferenciadas e que não se dividem, permanecem em G0, em sua grande maioria. Estas células, juntamente com as células musculares estão entre as células mais radioresistentes do corpo humano, enquanto que o mais sensíveis são os espermagônios e eritroblastos, as células estaminais epidérmicas, células estaminais gastrointestinais. A redução da neurogênese no hipocampo foi observada após irradiação devido a morte celular por apoptose, mostrando que estas células são altamente sensíveis à radiação (8). Outro estudo, da zona proliferativa (camada neuroblástica) da retina de ratos em desenvolvimento, mostraram também que a radiação gama induz a apoptose (9).

O cérebro é uma rede altamente complexa e não linear (10) e o registro mais simples e usual de sua atividade na prática clínica rotineira é o EEG, que é uma importante ferramenta na compreensão do cérebro em estados normais e patológicos (11). Hans Berg (12), associou a existência de uma relação entre específicas faixas de frequências do EEG a distintos comportamentos. Então, pesquisas têm procurado associações de faixas, de frequência, específicas do EEG a distintos estados cerebrais (16), por exemplo, a faixa entre 8-13 Hz está associada com a vigília tranquila e alterações desse ritmo pode ser associado a processos fisiopatológicos (13).

Para identificar e quantificar as diferentes oscilações cerebrais é necessário realizar a decomposição espectral deste sinal. Um método, linear, bastante utilizado para a decomposição espectral é a transformada de Fourier (FT). Este método permite a caracterização do EEG através das suas frequências componentes (11). Muitos estudos têm mostrado que os métodos de análise não linear, aplicados ao EEG, foram eficientes para identificar processos patológicos (14,15). Sokimbi (16), ao utilizar métodos não lineares de entropia amostral e o expoente de Hurst em sinais cerebrais, obtidos em ressonância magnética funcional (fMRI), em pacientes esquizofrênicos observaram uma maior complexidade do que em indivíduos saudáveis. Alguns métodos não-lineares foram utilizados para a previsão de crises epiléticas, tal como o expoente de Lyapunov, índice de similaridade e dimensão de correlação (17). A Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) quando aplicada em magnetoencefalogramas cerebrais teve boa precisão na identificação da doença de Alzheimer (18) e para identificação de sedação em ratos (19). Manilo & Volkova utilizando a entropia aproximada foram capazes de quantificar a anestesia profunda (20). Um problema importante na análise do EEG é que a maioria dos métodos foram desenvolvidos para séries estacionárias, isto é, que possuem propriedades estatísticas que não variam ao longo do tempo (24), logo são inadequadas para análise de séries temporais não-estacionária, tal como o EEG. Um método eficiente para o tratamento de séries não estacionárias é a Análise de Flutuação Destendenciada (Detrended Fluctuation Analysis - DFA), que tem sido amplamente utilizada para descrever a correlação temporal de longo alcance (LRCT) no EEG.

O DFA é um dos métodos mais utilizados para a identificação de correlação de longo alcance, em séries temporais, especialmente por ser capaz de quantificar LRCT em séries não estacionárias, como EEG (22). Tem sido eficiente para identificar mudanças nos padrões de EEG

de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (15). Outros autores identificaram LRCT no EEG de seres humanos e caracterizou os expoentes α -DFA para detectar doenças tais como a depressão e epilepsia (23). LRCT estão presentes no hipocampo com atividade epiléptica (21) e também em pacientes esquizofrênicos (24). Abasolo (14) avaliou a combinação de análise espectral com o DFA sugerido que a aplicação da correlação de longo alcance para investigar os envelopes das amplitudes das oscilações é mais viável para identificar alterações degenerativas através do EEG, tal como no modelo de doença de Alzheimer. Além disso, a sensibilidade dos expoentes α -DFA, para identificar alterações no perfil de EEG, variam de acordo com a frequência da onda e da região analisada (24,25).

Portanto, o cérebro foi caracterizado como um tecido sensível à radiação ionizante e poderia ser utilizado como um biomarcador de exposição. Talvez seja um método mais rápido para avaliar doses agudas recentes (3 meses) quando comparado com o método tradicional bem estabelecido de dosimetria citogenética, que é baseado na quantificação de aberrações cromossômicas em linfócitos periféricos, onde este método de biodosimetria gasta um certo tempo, apesar de ter uma boa especificidade (22). Este trabalho tem como objetivo a utilização de métodos lineares, espectro de potência (Power Spectrum-PS), junto com métodos não lineares, como o DFA, para identificar possíveis variações eletrofisiológicas em ratos após a exposição à radiação gama, procurando identificar possíveis biomarcadores de exposição cerebral à radiação ionizante com base nos métodos propostos.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS E DESENHO EXPERIMENTAL

Quinze ratos adultos, com 120 dias de idade, da variedade Wistar, (*Rattus norvegicus*) foram obtidos do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os animais foram alojados em gaiolas e mantidos no ciclo claro/escuro de 12 h luz e tiveram livre acesso a água e ração comercial LABINA[®] (Purina – Paulínia, Brasil) e. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa Animal e Ética da UFRPE (Protocolo: 010/2012), de acordo com os princípios básicos para animais de pesquisa. Os animais foram divididos em três grupos: um controle (n = 5) e dois grupos irradiados; um

avaliado 24 horas (IR24) (n = 5) e os outros 90 dias (IR90) (n = 5) após a exposição à radiação ionizante.

EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO

A irradiação foi realizada nos animais anestesiados com xilazina (10mg/kg) e quetamina (75mg/kg) aplicadas por via intraperitoneal. Os animais anestesiados foram expostos a radiação no Instituto de Radioterapia Waldemir Miranda (IRWAN). Foram aplicados 9 Gy de radiação gama de ^{60}Co na parte superior da cabeça e em seguida mais 9 Gy na parte inferior da cabeça, totalizando 18 Gy. A fonte de aplicação da RI foi a mesma utilizada nos processos de radioterapia, com meia-vida física de 5,3 anos e radiações gama em cascata de 1,17 e 1,33 MeV. A distância focal foi de 80 cm da fonte de irradiação. A taxa de dose da fonte foi de 123,4cGy/min. e o tempo de exposição de 15,27 min.

REGISTRO DO ECoG

O eletrocorticograma (ECoG) é uma metodologia de registro da atividade elétrica do córtex cerebral através de eletrodos fixados diretamente na superfície exposta do córtex. O ECoG possui uma resolução maior que o EEG. Isto ocorre devido no EEG existirem atenuações dos potenciais pós-sinápticos pelo crânio que possui baixa condutância (31).

Para o registro do ECoG os animais foram anestesiados com xilazina (10mg/kg) e quetamina (75mg/kg) via intraperitoneal. A temperatura retal foi mantida em torno de $37,5 \pm 1^\circ\text{C}$ com aquecedor elétrico posicionado sob o animal. Depois, os animais tiveram suas cabeças fixadas em um estereotáxico e uma incisão foi realizada de forma a expor o periósteo, que foi removido em seguida. Em seguida, um orifício circular de cerca de 3 mm de diâmetro foi trepanado no hemisfério esquerdo do osso parietal, expondo o córtex. Neste orifício foi inserido um eléctrodo do tipo Ag-AgCl foi colocado sobre o córtex cerebral e um outro eletrodo, do mesmo tipo, foi colocado sobre o osso nasal.

Registrou-se 30 minutos da atividade cerebral com um aparelho EMG 410C (EMG System, Brasil) utilizando uma taxa de amostragem de 750 Hz. A Figura 1 mostra a gravação de ECoG

para controle, IR24 e IR90. Após o registro ECoG, os animais foram sacrificados com aprofundamento anestésico.

PROCESSAMENTO DO SINAL

Os registros dos ECoG's foram segmentados em janelas de dois minutos. Nestes segmentos do ECoG foram utilizados para o cálculo do espectro de potência, a fim de aproximar a uma condição estacionária. Os segmentos foram importados para o software OriginPro 9.0 (OriginLab, Northampton, MA, USA) e filtrados com um filtro passa banda do tipo FFT (Fast Fourier Transform). Em seguida os envelopes correspondentes aos ritmos: delta (0-4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa (8-16 Hz) e beta (16-32 Hz) foram extraídos pela transformada de Hilbert.

O quadrado Transformada de Fourier da ECoG gera seu espectro de potência. A potência média obtida no espectro permite estimar a contribuição dos diferentes ritmos cerebrais no sinal ECoG. Formalmente, o espectro de potência para um registro do ECoG pode ser calculado como segue (equação 1):

$$\overline{E}_{\omega} = \frac{\int_{v_s}^{v_e} |f(v)|^2 dv}{\int_{v_s}^{v_e} dv} \quad (1)$$

Onde $f(v)$ é a Transformada de Fourier do sinal $f(t)$, aqui representado pelo ECoG. O $\overline{E}_{\omega}$ é o espectro de potência normalizado por um determinado intervalo de frequência $\omega = [v_s, v_e]$, aqui representado pelos diferentes ritmos.

O cálculo da potência média de cada ritmo foi obtido utilizando uma rotina baseada no método de Welch (26) e implementado no software MATLAB (The Mathworks, Natick, MA, EUA).

O DFA é um método não-linear com base em análise de flutuações dos dados após a remoção de tendências em uma série temporal integrada (27).

O processo para integrar a série temporal é mostrado através na equação 2:

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (y(i) - M) \quad (2)$$

Onde M é o valor médio de $y(i)$ com $i = 1, 2, \dots, N$ e k é um número inteiro.

A integração acima transforma a série original em um processo sem limites. A série $y(k)$ é dividida em intervalos de comprimento n . Cada intervalo é definido usando funções polinomiais, representando a tendência em cada intervalo. A função que caracteriza o comprimento das flutuações para um comprimento de n intervalos utilizados para remover a tendência é mostrado pela equação 3:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2} \quad (3)$$

O cálculo é repetido em vários comprimentos de intervalo n para determinar a relação entre as flutuações ($F(n)$) e o comprimento do intervalo n . Para processos fractais (auto-similar), $F(n)$ aumenta com n seguindo uma lei de potência, conforme mostrado na equação 4:

$$F(n) \approx n^\alpha \quad (4)$$

A auto-similaridade do expoente α pode ser calculada usando a inclinação obtida por regressão linear de gráfico $\log F(n)$ versus $\log n$.

Se $\alpha = 0,5$ a série é dita descorrelacionada; $\alpha > 0,5$ indica correlações de longo alcance persistentes; $\alpha < 0,5$, mostra uma correlação de longo alcance anti-persistentes. Os outros valores que podem ser encontrados são: $\alpha = 1$ correspondente ao ruído $1/f$; o $\alpha \geq 1$ existe correlação no sinal, contudo está não segue a forma de uma lei de potência; $\alpha = 1,5$ - ruído marrom (27).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados são descritos como mediana e intervalo interquartil. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparação entre as amostras, quando necessário foi utilizado post hoc de Dunn. $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A Figura 1 mostra segmentos de ECoG para os grupos: Controle, IR24 e IR90. Para cada grupo experimental foi construído o espectro de potência para cada segmento do ECoG e calculada a energia para diferentes intervalos de frequência, correspondentes aos diferentes ritmos, como mostrado na Figura 2.

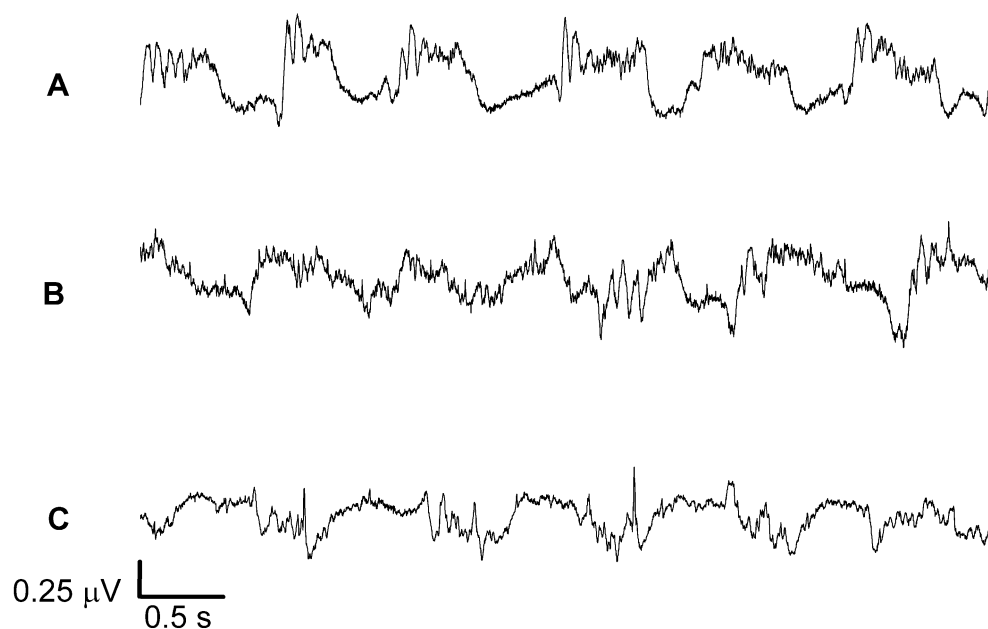


Figura 1. Segmentos de cinco segundos representativos do ECoG dos grupos: Controle (A); IR24 (B) e IR90 (C).

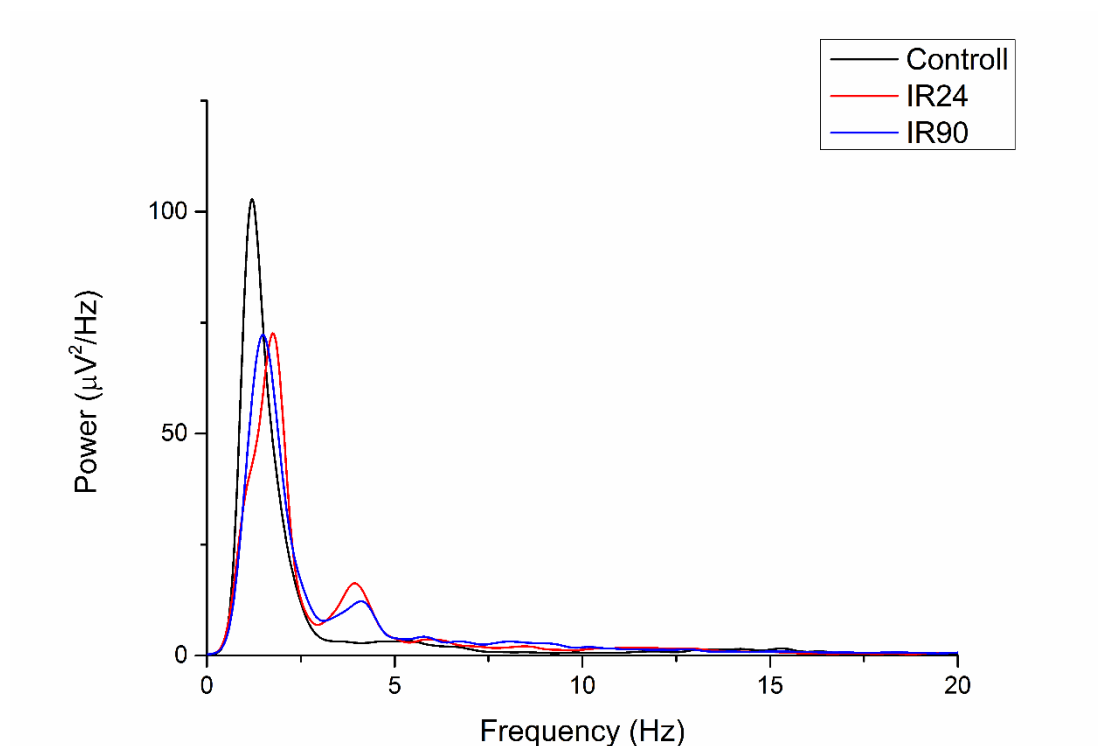


Figura 2. Espectros de potências do ECoG para o grupo controle (preto), IR24 (vermelho) e IR90 (azul).

A Figura 3 mostra os ritmos filtrados de ECoG utilizando um filtro FFT para o grupo controle. Nesta figura pode ser observada as frequências: delta (δ), teta (θ), alfa (α) e beta (β).

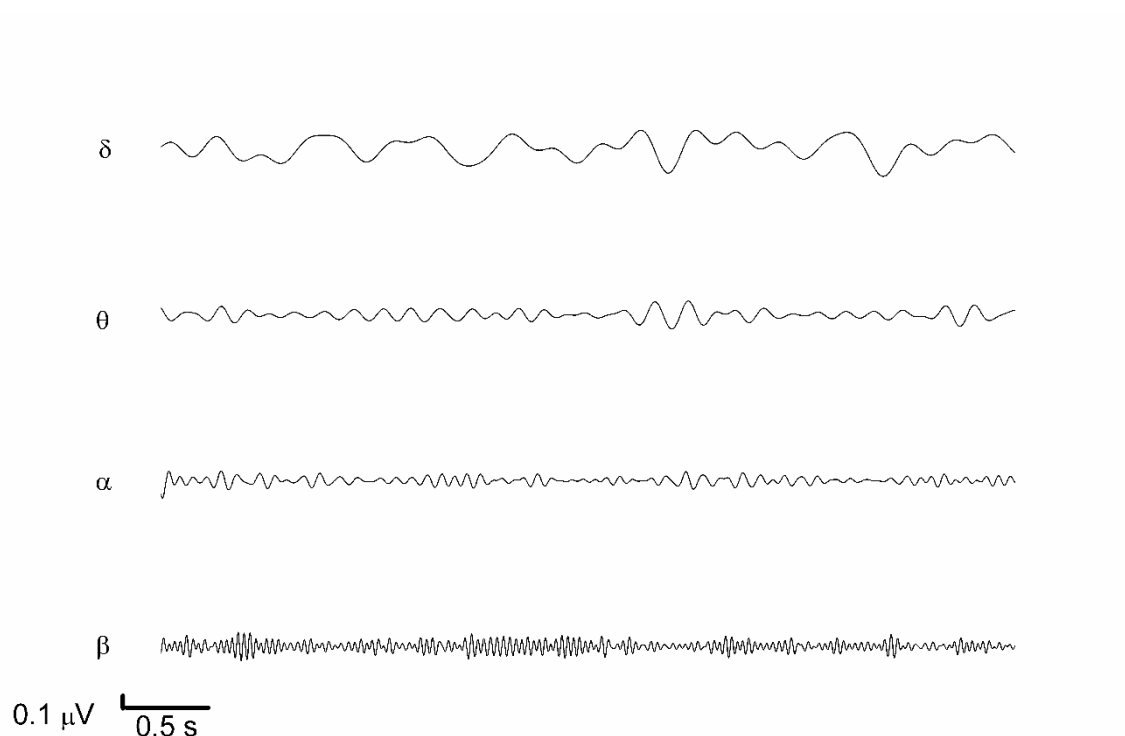


Figura 3. Representa as frequências delta (δ), teta (θ), alfa (α) e beta (β), obtidas por filtros do tipo FFT de um ECoG.

A potência média e intervalo interquartil (em $\mu\text{V}^2 \cdot \text{Hz}^{-1}$) das ondas delta, teta, alfa e beta do ECoG pode ser observado na Figura 2. Os grupos IR24 e IR90 mostraram uma redução significativa da potência média para o ritmo delta, em comparação com o controle. O ritmo teta, para os dois grupos irradiados, teve um aumento significativo em relação ao controle ($p < 0,01$). As potências médias das ondas alfa e beta não diferiram em relação ao controle. No entanto, as potências médias para os dois grupos irradiados diferiram para os ritmos alfa ($p < 0,05$).

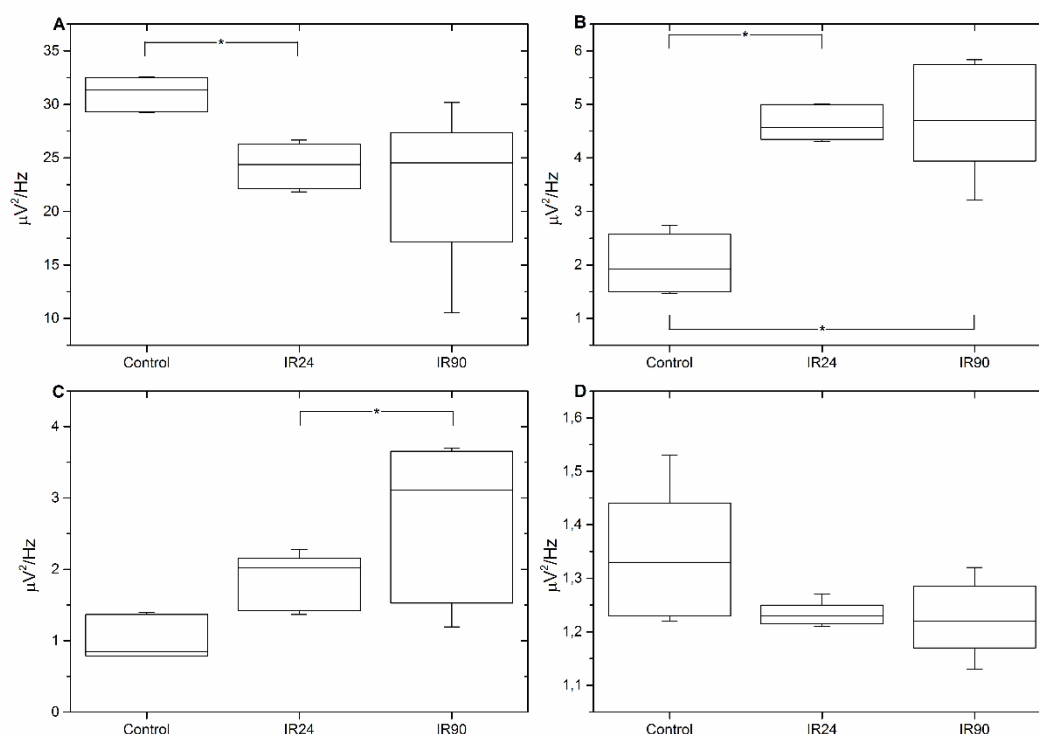


Figura 4. Gráficos de caixas (mediana, 1º e 3º quartil, máximo e mínimo), mostrando os valores de energia dos grupos: controle, IR24 e IR90 para as ondas delta (A), teta (B), alfa (C) e beta (D). * $P < 0.05$, (Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis).

Os valores médios e intervalo interquartil do α -DFA dos ritmos delta, teta, alfa, beta e todo o registro da ECoG são apresentados na Figura 5. O expoente α -DFA para a onda delta não variou significativamente entre os grupos, enquanto que para teta e beta houve uma diferença significativa apenas entre o controle e IR24. O ritmo alfa diferiu significativamente somente entre IR90 e de controle. Na análise de todo registro do ECoG, ambos os grupos irradiados tiveram o expoente da α -DFA significativamente diferentes do controle.

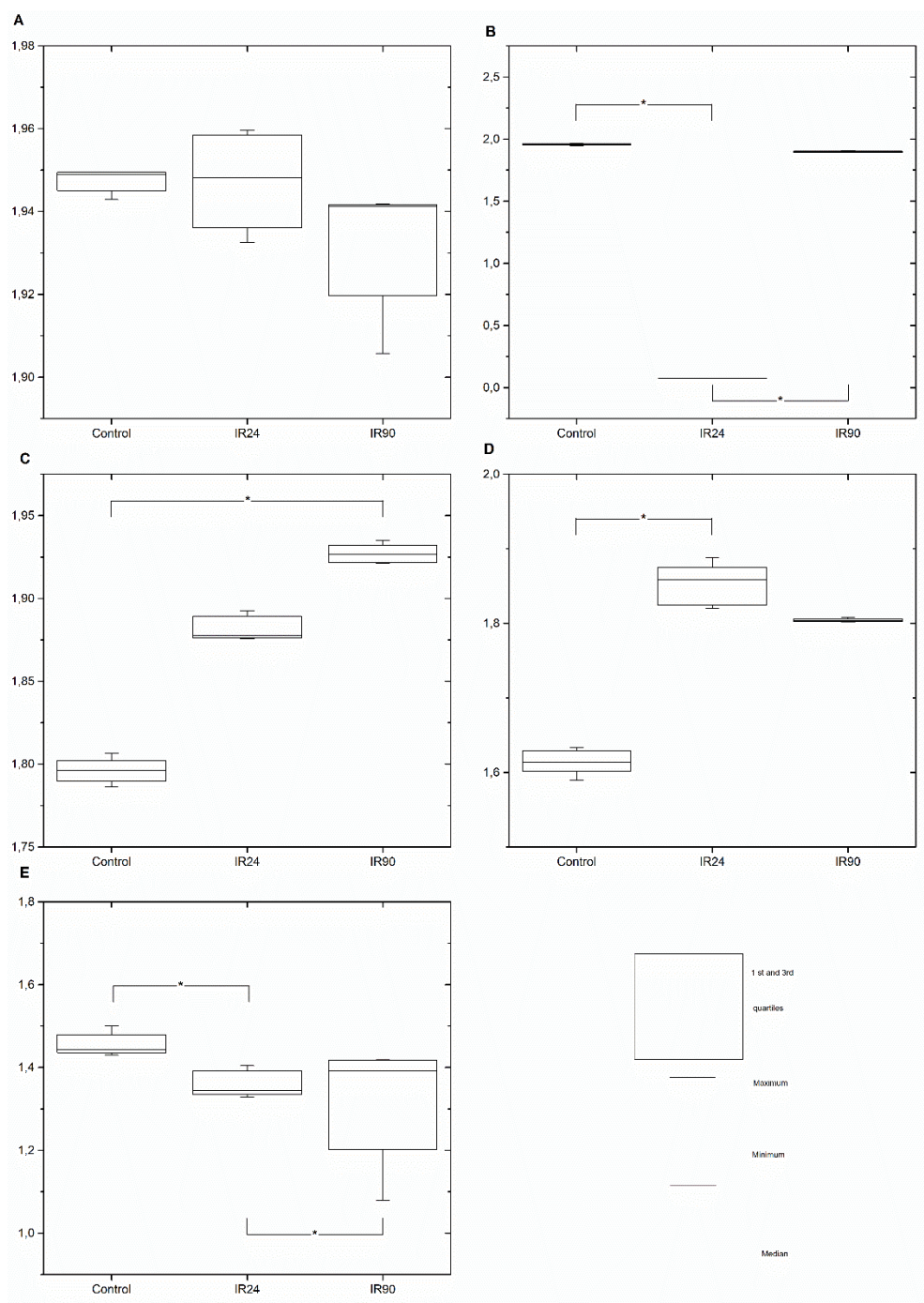


Figura 5. Gráficos de caixas (mediana, 1º e 3º quartinho, máximo e mínimo), mostrando os valores do α -DFA dos grupos: controle, IR24 e IR90 para as ondas delta (A), teta (B), alfa (C), beta (D) e todo o registro do ECoG. * $P < 0.05$, (Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis).

DISCUSSÃO

O enfoque deste trabalho foi investigar a sensibilidade do espectro de potência e DFA para identificar mudanças no perfil ECoG tanto 24 h (grupo IR24) como três meses (grupo IR90) após a exposição RI, tentando estabelecer uma assinatura de exposição do cérebro à radiação ionizante, visando sugerir a constituição de um biomarcador.

Com o espectro de potência do ECoG foi possível identificar que os ritmos teta e alfa, do grupo RI24 aumentam em relação ao controle, sendo estas alterações persistentes dado que os valores ainda continuaram alterados 90 dias após a exposição à radiação (RI90). As ondas delta e beta não foram alterados por radiação quando comparadas com o grupo controle. Efeitos da RI sobre a atividade cortical em ratos não foram encontrados na literatura, mas em humanos Loganovsky & Yuryev (6), estudando sobrevivente de Chernobyl, mostraram que a atividade das ondas beta e delta aumentaram e ocorreu a diminuição das ondas alfa e teta. Yaar et al. (28) trabalhando com os seres humanos expostos a doses baixas (1,21 a 1,39 Gy), também mostrou um aumento na onda beta no espectro de potência de atividade EEG, mas não observou significantes mudanças em outros ritmos. Apesar de diferenças entre o ECoG em ratos e humanos, o espectro de potência e o α -expoente do DFA podem ser usados com um biomarcador de exposição de radiação ionizante, considerando cada especificidade animal.

O DFA identificou redução da correlação de longo alcance no registro ECoG, ambos por 24 horas e 90 dias após a irradiação. Este método, quando aplicado ao componente teta do ECoG mostra que para os grupos irradiados a LRCT aumentou significativamente em comparação com o controle para os dois grupos irradiados (RI24 e RI90). Para o componente alfa, um aumento significativo foi observado apenas em 90 dias depois da irradiação, quando comparada com o controle. Para os componentes delta e beta do ECoG não foi observada nenhuma alteração na correlação de longo alcance em relação ao controle.

O ritmo teta no grupo RI24 foi mais sensível para identificar mudanças nos padrões de ECoG. Para este ritmo foi identificado uma correlação de longo alcance anti-persistente igual a 0,07, enquanto que para os outros ritmos do coeficiente α -DFA foi de aproximadamente $\approx 1,5$ corresponde ao ruído browniano. Quando aplicado a todo o ECoG, um valor de α -DFA $\approx 1,5$ correspondente ao ruído Browniano. Os grandes valores de α -DFA pode ser fruto de uma anestesia profunda (35).

Animais expostos experimentalmente à 5 ou 10 Gy, de raio X, tiveram redução da neurogênese e déficits cognitivos induzidos 3 meses mais tarde (29), sugerindo que a irradiação craniana pode induzir déficits de memória dependente do hipocampo. A neurogênese é responsável pelas atividades de aprendizagem, memória e orientação espacial (30) e modulação do ritmo teta (31). Portanto, mudanças no ritmo teta neste trabalho podem estar relacionadas com os danos que a RI induz neste gerador teta, sendo fortemente evidenciada pela presença de LRCT no grupo IR24 e aumento da potência nos ritmos teta dos grupos IR24 e IR90 em comparação com o animal controle.

Os modelos de computacionais mostraram que as correlações temporais de longo alcance são dependentes das amplitudes de oscilação dos potenciais gerados por redes neurais (32). A propagação da atividade elétrica é dependente do sistema de membrana e neurotransmissores (30) e alguns trabalhos recentes demonstraram que os diferentes tipos e fontes de radiação ionizante provocam mudanças no potencial pós-sináptico no hipocampo, tornando esta região hiperexcitável (33-35). Registros intracelulares dos neurônios mostraram que as propriedades da membrana, tais como a resistência, a constante de tempo, o limite de duração do potencial de ação e adaptação à frequência de estímulos não foram significativamente alteradas em relação à 1 a 3 meses após a exposição (33). Por outro lado, Obenaus et al (1) sugerem que estas alterações neurofisiológicas têm relações com vias celulares comuns, provavelmente, com o aumento dos neurotransmissores excitatórios e com a diminuição da atividade dos neurônios inibidores.

Em resumo, o espectro de potência e o DFA foram sensíveis para identificar alterações no ECoG e mostrar as alterações no padrão de ECoG24 horas após a irradiação ionizante e sua persistência após 90 dias. As aplicações destes métodos podem, no futuro, serem utilizadas para identificar os níveis de radiação e assim ser um usado como um novo biomarcador de exposição à radiação ionizante cérebro.

REFERÊNCIAS

1. Obenaus A, Mickley G, Bogo V, West B, Raber J. Behavioral and neurophysiological consequences of radiation exposure. Medical consequences of radiological and nuclear weapons. Fort Detrick, MD: Borden Institute; 2012. p. 127–70.

2. Davis H, Davis P. THE ELECTRICAL ACTIVITY OF THE BRAIN: ITS RELATION TO PHYSIOLOGICAL STATES AND TO STATES OF IMPAIRED CONSCIOUSNESS. THE RESEARCH PUBLICATIONS OF THE ASSOCIATION FOR RESEARCH IN NERVOUS AND MENTAL DISEASE. New York: Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.; 1939. p. 50–80.
3. Loganovsky KN, Loganovskaja TK. Schizophrenia spectrum disorders in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident. *Schizophr Bull.* 2000 Jan;26(4):751–73.
4. Tarkhanov I. About physiological action of Röntgen rays on the central nervous system. *Hosp Newsp Botkin.* 1896;33:753.
5. Loganovsky KN, Yuryev KL. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: part 1: conventional EEG analysis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2001 Jan;13(4):441–58.
6. Loganovsky KN, Yuryev KL. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the chernobyl accident. Part 2: quantitative EEG analysis in patients who had acute radiation sickness. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2004 Jan;16(1):70–82.
7. Bergonie J, Tribondeau L. Interpretation of some results of radiotherapy and an attempt at determining a logical technique of treatment. *Radiat Res.* 1959 Oct;11:587–8.
8. Monje ML, Palmer T. Radiation injury and neurogenesis. *Curr Opin Neurol.* 2003 Apr;16(2):129–34.
9. Borges HL, Linden R. Gamma irradiation leads to two waves of apoptosis in distinct cell populations of the retina of newborn rats. *J Cell Sci.* 1999 Dec;112 (Pt 2):4315–24.
10. Roberts JA, Robinson PA. Quantitative theory of driven nonlinear brain dynamics. *Neuroimage.* 2012 Sep;62(3):1947–55.
11. Drongelen W van. *Signal Processing for Neuroscientists.* Signal Processing for Neuroscientists. Elsevier; 2007.
12. Berger H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch Psychiatr Nervenkr.* 1929 Dec;87(1):527–70.
13. Monto S. Dynamic correlations in ongoing neuronal oscillations in humans - perspectives on brain function and its disorders. *Aalto-yliopiston teknillinen korkeakoulu;* 2010. p. 72.
14. Abásolo D, Hornero R, Escudero J, Espino P. A study on the possible usefulness of detrended fluctuation analysis of the electroencephalogram background activity in Alzheimer's disease. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2008 Sep;55(9):2171–9.

15. Stam CJ, Montez T, Jones BF, Rombouts SARB, van der Made Y, Pijnenburg YAL, et al. Disturbed fluctuations of resting state EEG synchronization in Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol.* 2005 Mar;116(3):708–15.
16. Sokunbi MO, Gradin VB, Waiter GD, Cameron GG, Ahearn TS, Murray AD, et al. Nonlinear complexity analysis of brain fMRI signals in schizophrenia. *PLoS One.* 2014 Jan;9(5):e95146.
17. Lehnertz K, Andrzejak RG, Arnhold J, Kreuz T, Mormann F, Rieke C, et al. Nonlinear EEG analysis in epilepsy: its possible use for interictal focus localization, seizure anticipation, and prevention. *J Clin Neurophysiol.* 2001 May;18(3):209–22.
18. Gómez C, Hornero R, Abásolo D, Fernández A, Escudero J. Analysis of MEG background activity in Alzheimer's disease using nonlinear methods and ANFIS. *Ann Biomed Eng.* 2009 Mar;37(3):586–94.
19. Aguiar L a. a., Pessoa DT, Nogueria R a. 001 — (AGU0031) Lempel–Ziv complexity as a parameter to identify sedation in rats. *Epilepsy Behav. Elsevier B.V.*; 2014 Sep;38:181.
20. Manilo LA, Volkova SS. Recognition of the deep anesthesia stage from parameters of the approximated entropy of EEG signal. *Pattern Recognit Image Anal.* 2013 Mar 26;23(1):92–7.
21. Parish LM, Worrell G a., Cranstoun SD, Stead SM, Pennell P, Litt B. Long-range temporal correlations in epileptogenic and non-epileptogenic human hippocampus. *Neuroscience.* 2004 Jan;125(4):1069–76.
22. Fernandes TS, Silva IMS, Moraes RB, Aguiar LÁA, Amaral A, Barbosa CT, et al. Non-linear dynamics of chromosome condensation induced by colcemid. *Brazilian Arch Biol Technol. Tecpar*; 2013 Feb;56(1):85–92.
23. Shalhaf R, Hosseini PT, Analoui M. Epilepsy detection using Detrended Fluctuation Analysis. 2009 International Conference on Wavelet Analysis and Pattern Recognition. *IEEE*; 2009. p. 235–40.
24. Nikulin V V, Jönsson EG, Brismar T. Attenuation of long-range temporal correlations in the amplitude dynamics of alpha and beta neuronal oscillations in patients with schizophrenia. *Neuroimage.* 2012 May 15;61(1):162–9.
25. Linkenkaer-Hansen K, Monto S, Rytsälä H, Suominen K, Isometsä E, Kähkönen S. Breakdown of long-range temporal correlations in theta oscillations in patients with major depressive disorder. *J Neurosci.* 2005 Nov 2;25(44):10131–7.
26. Welch P. The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: A method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Trans Audio Electroacoust.* 1967 Jun;15(2):70–3.

27. Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos*. 1995 Jan;(1):82–7.
28. Yaar I, Ron E, Modan B, Rinott Y, Yaar M, Modan M. Long-lasting cerebral functional changes following moderate dose x-radiation treatment to the scalp in childhood: an electroencephalographic power spectral study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1982 Feb;45(2):166–9.
29. Raber J, Rola R, Lefevour A, Morhardt D, Curley J, Mizumatsu S, et al. Radiation-Induced Cognitive Impairments are Associated with Changes in Indicators of Hippocampal Neurogenesis. *Radiation-Induced Cognitive Impairments are Associated with Changes in Indicators of Hippocampal Neurogenesis*. 2004;162(1):39–47.
30. Buzsáki G. *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press; 2006.
31. Tsanov M, O'Mara SM. Decoding signal processing in thalamo-hippocampal circuitry: implications for theories of memory and spatial processing. *Brain Res*. 2014 Dec 9;
32. Poil S-S, Hardstone R, Mansvelder HD, Linkenkaer-Hansen K. Critical-state dynamics of avalanches and oscillations jointly emerge from balanced excitation/inhibition in neuronal networks. *J Neurosci*. 2012 Jul 18;32(29):9817–23.
33. Obenaus A, Nelson G, Spigelman I, Vlkolinský R, Krucker T. Alterations in hippocampal electrophysiological characteristics and development of hyperexcitability after ⁵⁶Fe radiation exposure. *European Winter Conference on Brain Research*. Villars, Switzerland; 2007.
34. Pekcec A, Lüpke M, Baumann R, Seifert H, Potschka H. Modulation of neurogenesis by targeted hippocampal irradiation fails to affect kindling progression. *Hippocampus*. 2011 Aug;21(8):866–76.
35. Murphy R, López-Valdés He, Vlkolinský R, Obenaus A, Nelson G, Spigelman I. Hippocampal hyperexcitability and decreased GABAergic inhibition after ⁵⁶Fe radiation exposure. In: *Neuroscience S for*, editor. Program No XXXXX 2008 Neuroscience Meeting Planner. Washington, DC; 2008.

ANEXOS

Long-term correlation of the electrocorticogram as a bioindicator of brain exposure to ionizing radiation

L.A.A. Aguiar¹, I.M.S. Silva², T.S. Fernandes² and R.A. Nogueira¹

¹Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

²Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

Abstract

Understanding the effects of radiation and its possible influence on the nervous system are of great clinical interest. However, there have been few electrophysiological studies on brain activity after exposure to ionizing radiation (IR). A new methodological approach regarding the assessment of the possible effects of IR on brain activity is the use of linear and nonlinear mathematical methods in the analysis of complex time series, such as brain oscillations measured using the electrocorticogram (ECoG). The objective of this study was to use linear and nonlinear mathematical methods as biomarkers of gamma radiation regarding cortical electrical activity. The animals were divided into 3 groups: 1 control and 2 irradiated groups, evaluated at 24 h (IR24) and 90 days (IR90) after exposure to 18 Gy of gamma radiation from a cobalt-60 radiotherapy source. The ECoG was analyzed using power spectrum methods for the calculation of the power of delta, theta, alpha and beta rhythms and by means of the α -exponent of the detrended fluctuation

analysis (DFA). Using both mathematical methods it was possible to identify changes in the ECoG, and to identify significant changes in the pattern of the recording at 24 h after irradiation. Some of these changes were persistent at 90 days after exposure to IR. In particular, the theta wave using the two methods showed higher sensitivity than other waves, suggesting that it is a possible biomarker of exposure to IR.

Correspondence: R.A. Nogueira: <ran.pe@terra.com.br>.

Received . Accepted . First published online .

Authors: L.A.A. Aguiar et al.

Running title: Bioindicators of brain exposure to ionizing radiation

Key words: Power spectrum; Detrended fluctuation analysis; Electrocorticogram; Brain irradiation; Ionizing radiation

Introduction

The possible effects of ionizing radiation (IR) on the nervous system are of great clinical interest, because this technology is widely applied in brain imaging as well as in the treatment of brain tumors (1). However, the available data on structural damage to the brain and to neurophysiological functions caused by IR and the repercussions for animal behavior are not yet conclusive (2). After accidental exposure to IR in humans, as in the case of Chernobyl, an increased

incidence of schizophrenia was identified. Hypotheses suggest that IR can be a trigger for people who have a predisposition to schizophrenia, or can even cause schizophrenia (3). However, the neurophysiological basis for this is poorly understood (1).

Since the first radiobiological experiments, the sensitivity of the human brain to radiation has been a point of discussion (4). Evidence has accumulated indicating significant neurophysiological alterations as a result of exposure to ionizing radiation, such as changes in electroencephalogram (EEG) patterns, the presence of epileptiform waves and neuropsychiatric disorders (5,6).

The law of Bergonié and Tribondeau (7) determines which cells are most (dividing and undifferentiated) and least (non-dividing and differentiated) sensitive to IR. Nerve tissue is constituted of differentiated cells; these cells are non-dividing and in the G0 stage of the cell cycle. Together with muscle cells these differentiated cells are among the most radioresistant in the human body, while the most sensitive cells are spermatogonia and erythroblasts, epidermal stem cells and gastrointestinal stem cells. After irradiation a reduction in neurogenesis was noted in the hippocampus as a result of cellular death by apoptosis, showing that these cells are highly sensitive to IR (8). Another study, involving the proliferative zone of the developing rat retina, has also shown that gamma radiation induces apoptosis (9).

The brain is a highly complex and nonlinear network (10). The most simple and usual record of its activity in routine clinical practice is obtained using an EEG, which is an important tool for understanding the behavior of the brain in normal and disease states (11). Berger (12) showed the existence of a relationship between brain states and a specific range of frequencies of the EEG. In addition, some research has associated different behaviors with specific EEG frequency bands, for example, the frequency range of 8-13 Hz is associated with quiet wakefulness

and alterations of this rhythm can be associated with pathophysiological processes (13).

To identify and quantify the different brain oscillations the spectral decomposition of this signal should be realized. A linear method used in this decomposition is the Fourier transform (FT). This method allows the characterization of the EEG through its component frequencies (11). Many studies have shown that nonlinear analysis methods, when applied to the EEG, were also efficient in identifying pathological processes (14,15). Sokunbi et al. (16), using the sample entropy and Hurst exponent methods analyzed the brain functional magnetic resonance imaging signals in individual schizophrenics and observed a higher complexity than in healthy individuals. Some non-linear methods have been used for seizure prediction, such as the Lyapunov exponent, similarity index and correlation dimension (17). Lempel-Ziv complexity applied in brain magnetoencephalograms has been reported to have good accuracy in identifying Alzheimer disease (18) and for the identification of sedation in rats (19). Manilo and Volkova, using the approximated entropy, were able to quantify deep anesthesia (20). One important problem in analyzing the EEG is that most methods designed for stationary time series, i.e. having statistical properties such as mean and variance that do not vary with time (21), are inadequate for the analysis of non-stationary time series such as the EEG. An efficient approach for handling non-stationary series is the detrended fluctuation analysis (DFA), which has been widely used to describe the long-range temporal correlation (LRTC) in the EEG.

The DFA is one of the most widely used methods for the identification of LRTC in time series especially in being able to quantify scales in non-stationary series such as the EEG (22). Studies have successfully used it to identify changes in EEG patterns regarding neurodegenerative diseases such as Alzheimer disease (15). Other authors have identified long-range temporal correlations in the EEG of humans and characterized the exponent α -DFA to detect diseases such

as depression and epilepsy (23). LRTC are also present in the hippocampus of epileptic (21) and schizophrenic patients (24). Abasolo et al. (14) evaluated the combination of spectral analysis with DFA. They suggested that the application of the LRTC regarding the investigation of the amplitude envelopes of the oscillations is more feasible in identifying degenerative changes through the EEG, such as in the Alzheimer disease model. Furthermore, the sensitivity of the α -DFA exponents, in identifying changes in the EEG profile vary according to the frequency of the wave and the region recorded (24,25).

Consequently, the brain has been characterized as a sensitive tissue to ionizing radiation and could be used as a biomarker of exposure. Perhaps it could be a faster method for evaluating human acute and recent (3 months) exposures when compared with the traditional well-established method of cytogenetic dosimetry, which is based on the quantification of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes; it is also a laborious and time consuming method of biodosimetry, despite its good specificity. The objective of the present study was to use the power spectrum and DFA to identify possible variations in the cortical electrical activity of rats after gamma-ray exposure, and attempt to identify new biomarkers of brain exposure to IR based on the methods proposed here.

Material and Methods

Animals and experimental design

Fifteen adult male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were obtained from the vivarium of the Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). The animals were housed using a 12-h light/dark cycle and had free access to food and

water. The experimental protocol was approved by the Committee on Animal Research and Ethics of the UFRPE (#010/2012), according to the basic principles for research using animals. The animals were divided into three groups: a control (n=5) and two irradiated groups; one was evaluated at 24 h (IR24; n=5) and the other at 90 days (IR90; n=5) after exposure to IR.

Radiation exposure

The irradiation was carried out with the animals anesthetized with 10 mg/kg xylazine and 75 mg/kg ketamine administered intraperitoneally. The anesthetized animals were irradiated at the Instituto de Radioterapia Waldemir Miranda. The absorbed dose using ^{60}Co gamma radiation was 9 Gy to the top of the head followed by 9 Gy to the bottom of the head, to a total dose of 18 Gy. The gamma source was one that was used for patient radiotherapy, with a physical half-life of 5.3 years and a gamma ray range of 1.17 to 1.33 MeV. The focal length was 80 cm from the radiation source. The dose rate of the source was 123.4 cGy/min and the exposure time was 15.27 min.

Electrocorticogram recording

The electrocorticogram (ECoG) is a methodology used to record the electrical activity of the cerebral cortex by introducing electrodes directly on to the exposed surface of the cortex. ECoG has higher resolution than EEG because of the attenuation of postsynaptic potentials by the skull that has a low conductance (26).

To record the ECoG, animals were anesthetized with 10 mg/kg xylazine and 75 mg/kg ketamine administered intraperitoneally. Rectal temperature was maintained at around $37.5 \pm 1^\circ\text{C}$ with an electric heater placed under the animal. Thereafter, the head was fixed to a stereotactic base in which an incision on the top of the head exposed the periosteum, which was subsequently

removed. Then, a circular hole of approximately 3 mm in diameter was trepanned on to the left hemisphere of the parietal bone, exposing the cortex. In this hole a single Ag-AgCl electrode was placed on the cerebral cortex and an identical electrode was placed on the nasal bone to perform the ECoG.

Twenty minutes after the anesthesia the ECoG was registered (over a period of 30 min) using an EMG device 410C (EMG Systems, Brazil) and a sampling rate of 750 Hz. Figure 1 shows the ECoG recording for the control, IR24 and IR90 groups. After the ECoG recording, the animals were euthanized using deep anesthesia.

Signal processing

The ECoG recordings were segmented using windows of 2 min in duration. These ECoG segments were used for power spectrum calculus to approximate to a stationary condition. The segments were imported into OriginPro 9.0 (OriginLab, USA) and filtered using a bandpass filter of the fast FT type. Then, the delta (0-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha (8-16 Hz), beta (16-32 Hz) and envelopes of the frequency intervals corresponding rhythms were obtained using the Hilbert transform.

The FT square of the ECoG originates its power spectrum. The mean power obtained in the power spectrum allows the estimation of the contribution of the different brain rhythms in the ECoG signal. Formally, the power spectrum for an ECoG record can be calculated as follows (Equation 1):

$\overline{E}_{\omega} = \frac{\int_{v_s}^{v_e} f(v) ^2 dv}{\int_{v_s}^{v_e} dv}$	(1)
--	-----

where $f(v)$ is the FT of the $f(t)$ signal, here represented by the ECoG. The $\overline{E}_{\omega}$ is the power spectrum normalized by a determined frequency interval $\omega = [v_s, v_e]$, here represented by the different rhythms.

The calculus of the mean power for each rhythm was obtained using a routine based on Welch's method (27) and implemented in the software MATLAB (Mathworks, USA).

The DFA is a non-linear method based on fluctuation analysis of the data after removal of trends in an integrated time series (28).

The procedure to obtain the integrated time series is shown in Equation 2:

$y(k) = \sum_{i=1}^k (y(i) - M)$	(2)
----------------------------------	-----

where M is the mean value of $y(i)$ with $i = 1, 2, \dots, N$ and k is a integer number.

The integration above transforms the original series into an unbounded process. The series $y(k)$ is divided into intervals of length n . Each interval is set by using polynomial functions, representing the trend in each interval. The function that characterizes the length of the fluctuations for a length n of the intervals used to remove the trend is shown by Equation 3:

$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2}$	(3)
--	-----

The calculation is repeated at various interval lengths n to determine the relationship between fluctuations $F(n)$ and the length of interval n . For fractal processes (self-similar), $F(n)$ increases with n by the power law, as shown in Equation 4:

$F(n) \approx n^\alpha$	(4)
-------------------------	-----

The self-similarity exponent α can be calculated by using the slope obtained by linear regression of graph $\log F(n)$ versus $\log n$.

If $\alpha=0.5$, the series was the result of a random event; $\alpha>0.5$ indicated the persistent long-range correlations. The other values were: $\alpha=1$ corresponding to $1/f$ noise (very rough landscape); the $\alpha \geq 1$: correlations existed but ceased to be of a power-law form or a random walk-like fluctuation; and finally, $\alpha=1.5$: brown noise; the integration of white noise (very smooth landscape) (28).

Statistical analysis

All statistical data are described as the median and interquartile range. The non-parametric Kruskal-Wallis test for significance was used; for comparison between samples the Dunn's *post hoc* was used when required. A P value <0.05 was considered to be statistically significant.

Results

Figure 1 shows a segment of the ECoG for the control, IR24 and IR90 groups. For each experimental group, the power spectrum from each segment of the ECoG was constructed and the power calculated for different frequency intervals corresponding to the different rhythms (Figure 2).

Figure 3 shows the cortical rhythms filtered from ECoG segments using a FT filter for the control group. In this figure, changes can be noted in the delta, theta and alpha rhythms. However, the beta rhythm was not modified.

The mean power and interquartile interval (in $\mu V^2/Hz$) for the delta, theta, alpha and beta rhythms regarding the ECoG's can be seen in Figure 4. The IR24 and IR90 groups showed a significant reduction in the mean power for the delta rhythms relative to the control group. Theta rhythms for the two irradiated groups increased their potencies significantly as compared with the control group ($P < 0.01$). The mean powers of alpha and beta rhythms did not differ from the control. However, the mean power for the two irradiated groups differed for the alpha rhythms ($P < 0.05$).

Mean values and the interquartile interval of the α -DFA regarding the delta, theta, alpha and beta rhythms, and the entire record of the ECoG are shown in Figure 5. The α -DFA exponent for the delta wave did not vary significantly between the groups, while for theta and beta there was only a significant difference between the control and IR24 groups. The alpha rhythm only differed significantly between the IR90 and the control groups. In the analysis of the entire record of the ECoG, the exponent of the α -DFA in both irradiated groups differed significantly from the control.

Discussion

The focus of this study was on the investigation of the sensitivity of the power spectrum and DFA to identify changes in the ECoG profile at 24 h after IR exposure (IR24 group) and 3 months after IR exposure (group IR90). The purpose was to establish a biomarker signature of brain exposure to IR.

The power spectrum of the ECoG showed that for the IR24 group, the ECoG activity regarding theta and alpha rhythms increased relative to the control, and were consistently elevated even at 90 days after IR exposure (group IR90). The delta and beta waves were not altered by IR when compared with the control. The effects of IR on brain cortical activity in rats has not been previously reported in the literature, but Loganovsky and Yuryev (6) in a study involving survivors of Chernobyl showed that the power spectrum of the EEG increased the activities of beta and delta waves and decreased alpha and theta wave activity. Yaar et al. (29) working with humans exposed to low doses of IR (1.21-1.39 Gy), also showed an increase in beta wave activity in the power spectrum of the EEG, but no significant change was observed in other rhythms. Despite the difference between the ECoG in rats and humans, the power spectrum and the alpha coefficient of DFA can be used as a biomarker of exposure to IR, taking into consideration the specificity of each animal.

The DFA identified a reduction in the LRTC in the ECoG record, both at 24 h and 90 days after irradiation. This method when applied to the theta component of the ECoG showed that for irradiated groups the LRTC for theta rhythm activity increased significantly relative to the control group at both 24 h and 90 days after irradiation. For the alpha component, a significant increase was observed only at 90 days after irradiation when compared with the control group. For the delta and beta components of the ECoG no change was observed in the LRTC in relation to the control

group.

The theta rhythm in the RI24 group was more sensitive in identifying changes in ECoG patterns. For this rhythm a correlation was shown for long-range anti-persistent rhythms and was equal to 0.07, while for the other rhythms the α -DFA coefficient was approximately 1.5, corresponding to Brownian noise. When applied to the entire ECoG, a value of α -DFA $\approx$ 1.5 corresponding to Brownian noise was found. The large values of α -DFA may result from deep anesthesia (30).

In experimental animals, X-irradiation with 5 or 10 Gy reduced hippocampal neurogenesis and induced cognitive deficits at 3 months after irradiation (31), suggesting that cranial irradiation may induce hippocampal-dependent memory deficits. Active neurogenesis is responsible for learning activities, memory and spatial orientation (32) and modulation of theta rhythm (33). Therefore, changes in the theta rhythm in the present study can be related to the damage that IR induced in this theta generator; this was strongly supported by the presence of a long-range correlation in the IR24 group and an increase in the power of the theta rhythms in the IR24 and IR90 groups as compared with the control group.

Computer models have shown that the temporal long-range correlations are dependent on the oscillation amplitudes of the potentials generated by neural networks (34). The spread of electrical activity is dependent on the membrane system and neurotransmitters (32). Some recent studies have demonstrated that different types and sources of IR cause changes in the postsynaptic potential in the hippocampus, making this region hyperexcitable (35-37). The intracellular recordings of neurons showed that membrane properties such as resistance, the time constant, duration of the threshold of action potential and spike frequency adaptation were not significantly changed from 1 to 3 months after exposure to IR (35). Obenaus et al. (1) suggested that these

neurophysiological changes have relationships with common cellular pathways, probably with an increase in excitatory neurotransmitters and a decrease in inhibitory ones.

In summary, power spectrum and detrended fluctuation analysis were sensitive in identifying changes in ECoG and showed changes in the pattern of ECoG at 24 h after irradiation; these persisted after 90 days. Applications of these methods could be used in future to identify radiation levels as a new biomarker of brain exposure to IR.

Acknowledgments

The study was supported by Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) fellowship to L.A.A. Aguiar and CENAPESQ-UFRPE for technical support.

References

1. Obenaus A, Mickley G, Bogo V, West B, Raber J. Behavioral and neurophysiological consequences of radiation exposure. Medical consequences of radiological and nuclear weapons. Fort Detrick: Borden Institute; 2012.
2. Davis H, Davis P. The electrical activity of the brain: its relation to physiological states and to states of impaired consciousness. New York: The research publications of the Association for Research in Nervous and Mental Disease; 1939.
3. Loganovsky KN, Loganovskaja TK. Schizophrenia spectrum disorders in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident. Schizophr Bull 2000; 26: 751-773.

4. Tarkhanov I. About physiological action of Röntgen rays on the central nervous system. Hosp Newsp Botkin 1896; 33: 753.
5. Loganovsky KN, Yuryev KL. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: part 1: conventional EEG analysis. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 2001; 13: 441-458.
6. Loganovsky KN, Yuryev KL. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the chernobyl accident. Part 2: quantitative EEG analysis in patients who had acute radiation sickness. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 2004; 16: 70-82.
7. Bergonié J, Tribondeau L. Interpretation of some results of radiotherapy and an attempt at determining a logical technique of treatment. Radiat Res 1959; 11: 587-588.
8. Monje ML, Palmer T. Radiation injury and neurogenesis. Curr Opin Neurol 2003; 16: 129-134.
9. Borges HL, Linden R. Gamma irradiation leads to two waves of apoptosis in distinct cell populations of the retina of newborn rats. J Cell Sci 1999; 112 (Part 23): 4315-4324.
10. Roberts JA, Robinson PA. Quantitative theory of driven nonlinear brain dynamics. Neuroimage 2012; 62: 1947-1955.
11. van Drongelen W. Signal processing for neuroscientists. San Diego: Elsevier; 2007.
12. Berger H. [Über das Elektrenkephalogramm des Menschen]. Arch Psychiatr Nervenkr 1929; 87: 527-570.
13. Monto S. Dynamic correlations in ongoing neuronal oscillations in humans - perspectives on brain function and its disorders. [master's thesis]. [Espoo]: Aalto University; 2010. 72 p.

14. Abasolo D, Hornero R, Escudero J, Espino P. A study on the possible usefulness of detrended fluctuation analysis of the electroencephalogram background activity in Alzheimer's disease. *IEEE Trans Biomed Eng* 2008; 55: 2171-2179.
15. Stam CJ, Montez T, Jones BF, Rombouts SA, van der Made Y, Pijnenburg YA, et al. Disturbed fluctuations of resting state EEG synchronization in Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 708-715.
16. Sokunbi MO, Gradin VB, Waiter GD, Cameron GG, Ahearn TS, Murray AD, et al. Nonlinear complexity analysis of brain fMRI signals in schizophrenia. *PLoS One* 2014; 9: e95146.
17. Lehnertz K, Andrzejak RG, Arnhold J, Kreuz T, Mormann F, Rieke C, et al. Nonlinear EEG analysis in epilepsy: its possible use for interictal focus localization, seizure anticipation, and prevention. *J Clin Neurophysiol* 2001; 18: 209-222.
18. Gomez C, Hornero R, Abasolo D, Fernandez A, Escudero J. Analysis of MEG background activity in Alzheimer's disease using nonlinear methods and ANFIS. *Ann Biomed Eng* 2009; 37: 586-594.
19. Aguiar L a.a., Pessoa DT, Nogueira R a. 001 - (AGU0031) Lempel-Ziv complexity as a parameter to identify sedation in rats. *Epilepsy Behav* 2014; 38: 181.
20. Manilo LA, Volkova SS. Recognition of the deep anesthesia stage from parameters of the approximated entropy of EEG signal. *Pattern Recognit Image Anal* 2013; 23: 92-97.
21. Parish LM, Worrell GA, Cranstoun SD, Stead SM, Pennell P, Litt B. Long-range temporal correlations in epileptogenic and non-epileptogenic human hippocampus. *Neuroscience* 2004; 125: 1069-1076.
22. Fernandes TS, Silva IMS, Moraes RB, Aguiar LÁA, Amaral A, Barbosa CT, et al. Non-linear dynamics of chromosome condensation induced by colcemid. *Braz Arch Biol Technol* 2013; 56: 85-92.

23. Shalhaf R, Hosseini PT, Analoui M. Epilepsy detection using Detrended Fluctuation Analysis. 2009. p 235-240.
24. Nikulin VV, Jonsson EG, Brismar T. Attenuation of long-range temporal correlations in the amplitude dynamics of alpha and beta neuronal oscillations in patients with schizophrenia. *Neuroimage* 2012; 61: 162-169.
25. Linkenkaer-Hansen K, Monto S, Rytsala H, Suominen K, Isometsa E, Kahkonen S. Breakdown of long-range temporal correlations in theta oscillations in patients with major depressive disorder. *J Neurosci* 2005; 25: 10131-10137.
26. Hashiguchi K, Morioka T, Yoshida F, Miyagi Y, Nagata S, Sakata A, et al. Correlation between scalp-recorded electroencephalographic and electrocorticographic activities during ictal period. *Seizure* 2007; 16(3):238–47.
27. Welch P. The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: A method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Trans Audio Electroacoust* 1967; 15: 70-73.
28. Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos* 1995; 5: 82-87.
29. Yaar I, Ron E, Modan B, Rinott Y, Yaar M, Modan M. Long-lasting cerebral functional changes following moderate dose x-radiation treatment to the scalp in childhood: an electroencephalographic power spectral study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982; 45: 166-169.
30. Gifani P, Rabiee HR, Hashemi MH, Taslimi P, Ghanbari M. Optimal fractal-scaling analysis of human EEG dynamic for depth of anesthesia quantification. *J Franklin Inst* 2007; 344(3-4):212–29.

31. Raber J, Rola R, LeFevour A, Morhardt D, Curley J, Mizumatsu S, et al. Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis. *Radiat Res* 2004; 162: 39-47.
32. Buzsáki G. *Rhythms of the brain*. New York: Oxford University Press; 2006.
33. Tsanov M, O'Mara SM. Decoding signal processing in thalamo-hippocampal circuitry: implications for theories of memory and spatial processing. *Brain Res* 2014.
34. Poil SS, Hardstone R, Mansvelder HD, Linkenkaer-Hansen K. Critical-state dynamics of avalanches and oscillations jointly emerge from balanced excitation/inhibition in neuronal networks. *J Neurosci* 2012; 32: 9817-9823.
35. Obenaus A, Nelson G, Spigelman I, Vlkolinský R, Krucker T. Alterations in hippocampal electrophysiological characteristics and development of hyperexcitability after ⁵⁶Fe radiation exposure. European Winter Conference on Brain Research. Villars, Switzerland: 2007.
36. Pekcec A, Lupke M, Baumann R, Seifert H, Potschka H. Modulation of neurogenesis by targeted hippocampal irradiation fails to affect kindling progression. *Hippocampus* 2011; 21: 866-876.
37. Murphy R, López-Valdés He, Vlkolinský R, Obenaus A, Nelson G, Spigelman I. Hippocampal hyperexcitability and decreased GABAergic inhibition after ⁵⁶Fe radiation exposure. In: Anonymous, Neuroscience. Program No XXX.XX 2008 Neuroscience Meeting Planner. Washington: Society for Neuroscience; 2008.

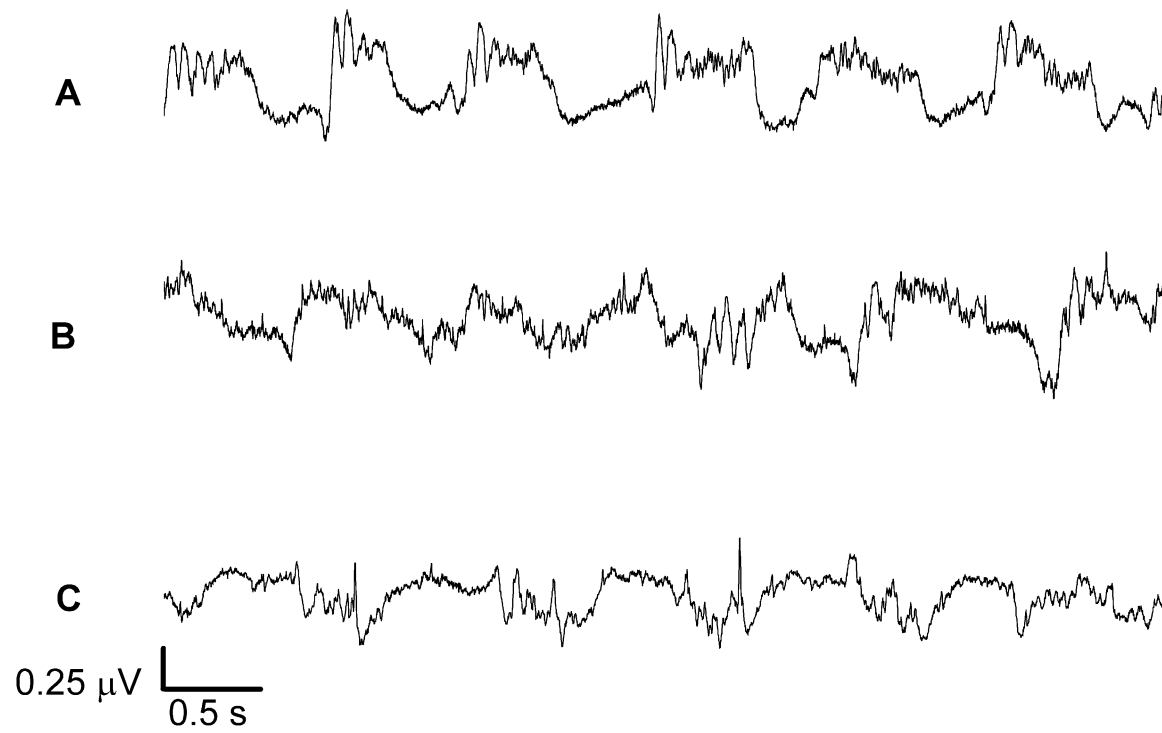


Figure 1. Electrocorticogram segment of 5 s duration for the following groups: control (A); IR24 (B) and IR90 (C).

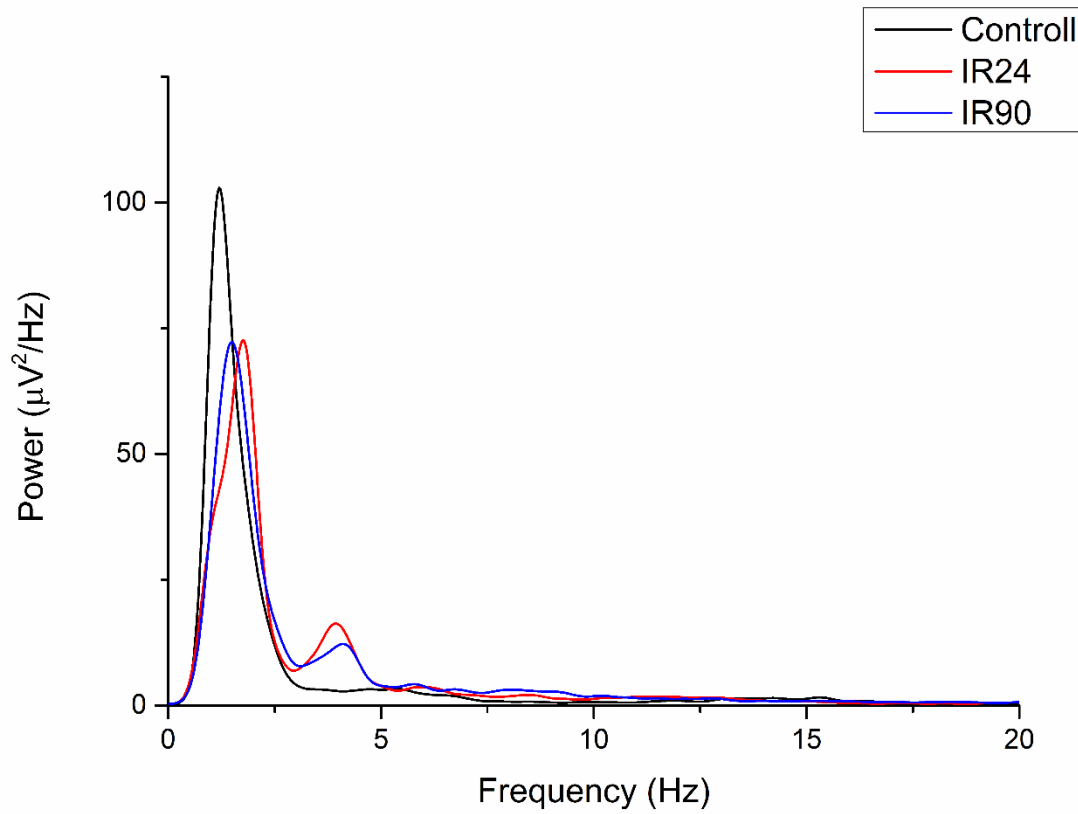


Figure 2. Power spectrum of the electrocorticogram for the following groups: control (black), irradiation for 24 h (IR24; red) and irradiation for 90 days (IR90; blue).

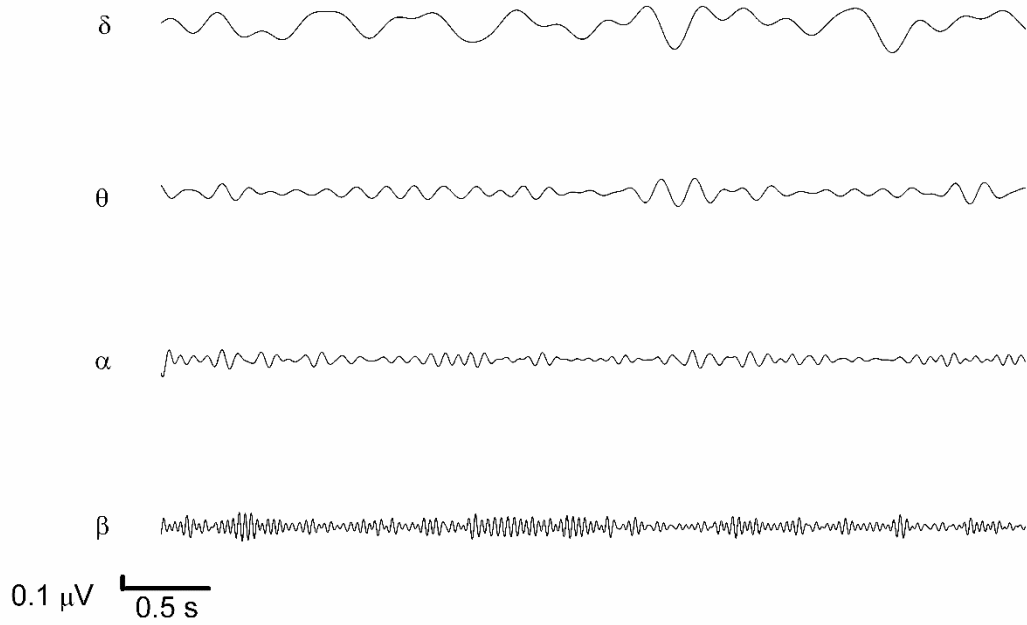


Figure 3. Frequency of delta (δ), theta (θ), alpha (α) and beta (β) brain rhythms filtered from the electrocorticogram.

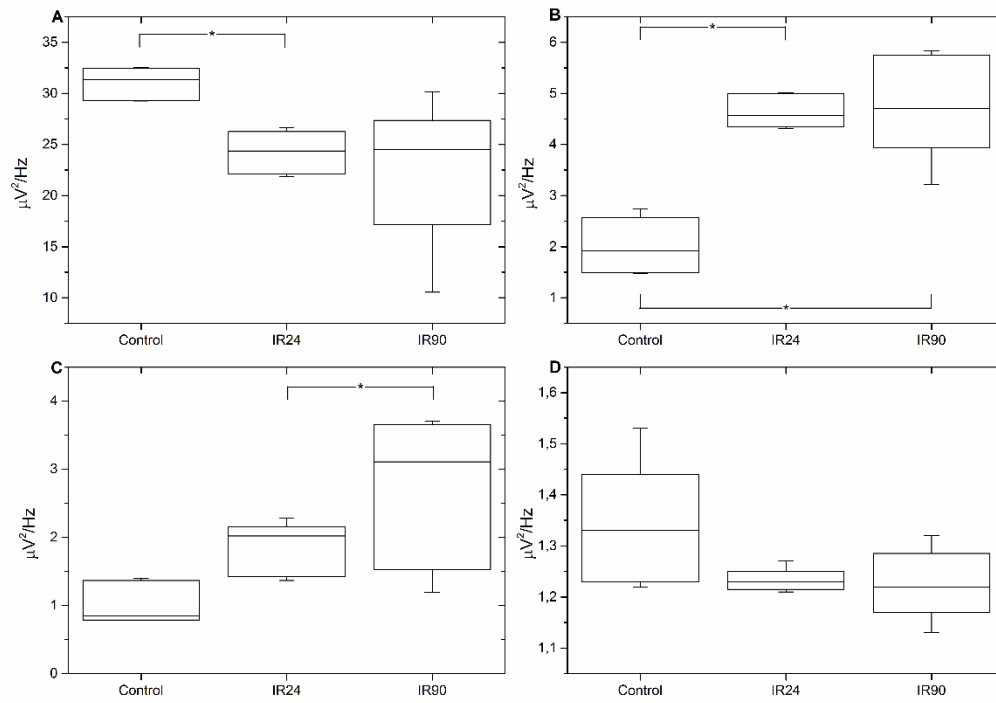


Figure 4. Box plot (median, 1st and 3rd quartiles, maximum and minimum) showing the results of the energy values for the control, irradiation for 24 h (IR24) and for 90 days (IR90) groups for the delta (A), theta (B), alpha (C) and beta (D) waves. * $P < 0.05$ (Kruskal-Wallis nonparametric test).

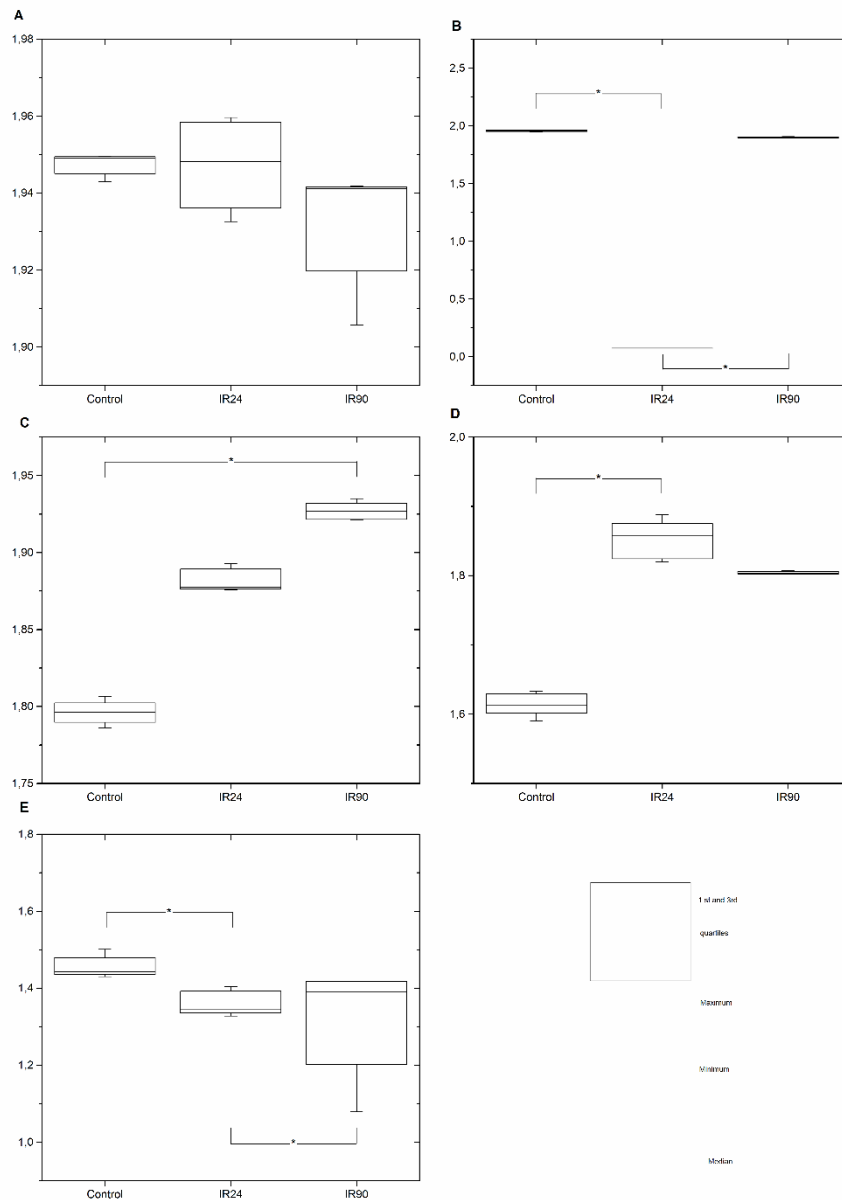


Figure 5. Box plot (median, 1st and 3rd quartiles, maximum and minimum) showing the results of the α -DFA for the control, irradiation for 24 h (IR24) and for 90 days (IR90) groups for the delta (A), theta (B), alpha (C) and beta (D) waves, and all electrocorticogram recordings (E). * $P < 0.05$ (Kruskal-Wallis nonparametric test).