



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA

TALITA FELICIANO DE SOUZA

EXEMPLOS DE RECURSOS RECENTES PARA ESTUDO DE FORMA E FUNÇÃO DE  
MÚLTIPLAS ÁREAS DO SISTEMA NERVOSO

Recife

2024

TALITA FELICIANO DE SOUZA

EXEMPLOS DE RECURSOS RECENTES PARA ESTUDO DE FORMA E FUNÇÃO DE  
MÚLTIPLAS ÁREAS DO SISTEMA NERVOSO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharela em Engenharia Biomédica.

**Área de Concentração:** Neuroengenharia

**Orientador (a):** Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Souza, Talita Feliciano de.

Exemplos de recursos recentes para estudo de forma e função de múltiplas áreas do sistema nervoso / Talita Feliciano de Souza. - Recife, 2024.

88 p. : il.

Orientador(a): Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Engenharia Biomédica - Bacharelado, 2024.

Inclui referências, apêndices.

1. Neurociência. 2. Atividade Neuronal. 3. Eletrofisiologia. 4. Neuroengenharia. I. Vasconcelos, Nivaldo Antonio Portela de. (Orientação). II. Título.

620 CDD (22.ed.)



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Tecnologia e Geociências  
Departamento de Engenharia Biomédica



### Ficha de Avaliação de Trabalho Supervisionado – 2023.2

Nome do(a) estudante	TALITA FELICIANO DE SOUZA
Orientador(a)	Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos
Título do Trabalho	Exemplos de recursos recentes para estudo de forma e função de múltiplas áreas do sistema nervoso
Data da Defesa	27 de março de 2024
Membros da Banca Examinadora	FERNANDO JOSÉ RIBEIRO SALES

Parecer e Nota	

Assinaturas dos Membros da Banca Examinadora	

Dedico aos meus pais, Eduardo e Elisabete, por todo amor, apoio, cuidado, sustento e educação. Só estou onde estou, graças ao carinho e trabalho de vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por não me desamparar, sempre estar comigo e me sustentar em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

À minha família, minha base, que tanto fez por mim, sou grata por todo apoio, força e paciência por aguentarem meus momentos de ausência durante a elaboração desse trabalho.

Aos meus amigos que sabem como sou grata. Obrigada por todo incentivo, distrações e alegrias que tornam a trajetória da vida mais leve.

Aos meus professores da época de escola, Professora Fátima e Professor Reginaldo (In memoriam) por tudo que fizeram por mim, por terem sido mestres extraordinários que fizeram a diferença na minha vida e que nunca esquecerei.

Ao Departamento de Engenharia Biomédica, em especial ao meu professor e orientador Nivaldo Vasconcelos, pela melhor orientação e auxílio durante esse trabalho e todos os ensinamentos ao longo da graduação.

## RESUMO

O estudo no campo neurocientífico se faz importante porque o cérebro é um dos principais órgãos do corpo e ele é responsável pela interpretação de estímulos e comunicação entre o meio interno e externo. Com o passar do tempo os organismos tendem a mudar, em alguns casos se degenerar e o envelhecimento populacional traz consigo um grande número de pessoas que podem ser acometidas por doenças neurológicas que quando o sistema não dispõe de estudos e estrutura adequada para abarcar essa problemática, pode sofrer com sobrecarga não só para meios de saúde como também financeiros, já que foi mostrado que o custo com tratamentos de demência chegou a atingir 1% do PIB (produto interno bruto) mundial em 2010. Por esse motivo, desenvolver habilidades de pesquisa e ensino voltadas para instigar a autonomia na aquisição de conhecimentos no campo da neurociência, fazendo uso de métodos, meios e dados científicos já disponíveis ao público como o projeto do *Allen Institute* que disponibilizou, entre outros, os dados de pesquisas de comportamento visual de camundongos e ferramentas como o Google Colaboratory que permitem ao usuário programar em linguagem *Python* por meio de máquina virtual sem a necessidade de instalação de programa em seu *desktop*. Possibilitando a demonstração e aplicação do uso desses material com linguagem acessível e tentando explicar os conceitos básicos que norteiam os dados, por meio da elaboração de cadernos com perguntas que podem ser criadas e respondidas com base na análise dos dados eletrofisiológicos de experimentos como os fornecidos pelo *Allen Institute*, para análise de spikes e atividades neurais.

**Palavras-chaves:** Neurociência. Atividade Neuronal. Eletrofisiologia. Neuroengenharia.

## ABSTRACT

Study in the neuroscientific field is important because the brain is one of the body's main organs and is responsible for interpreting stimuli and communicating between the internal and external environment. Over time, organisms tend to change, in some cases degenerate, and population aging brings with it a large number of people who can be affected by neurological diseases. When the system does not have adequate studies and structure to cover this problem, can suffer from overload not only on health but also financial means, as it was shown that the cost of dementia treatments reached 1% of global GDP (gross domestic product) in 2010. For this reason, developing research skills and teaching aimed at instigating autonomy in the acquisition of knowledge in the field of neuroscience, making use of scientific methods, means and data already available to the public such as the *Allen Institute* project that made available, among others, research data from visual behavior of mice and tools such as Google Colaboratory that allow the user to program in *Python* language through a virtual machine without the need to install a program on their *desktop*. Enabling the demonstration and application of the use of these materials using accessible language and trying to explain the basic concepts that guide the data, through the creation of notebooks with questions that can be created and answered based on the analysis of electrophysiological data from experiments such as those provided by *Allen Institute*, for analyzing spikes and neural activity.

**Keywords:** Neuroscience. Neuronal activity. Electrophysiology. Neuroengineering.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Mapa citoarquitetônico com 52 áreas proposto por Brodmann em que cada área tende a representar a diferença na citologia de cada estrutura cerebral ao longo do córtex. . . . . 21
- Figura 2 – Representação dos neurônios em diferentes camadas corticais e o tipo de coloração utilizada para conseguir visualizar a célula. Coloração de Golgi destaca os dendritos, axônios e corpo celular do neurônio. Coloração de Nissl destaca os dendritos proximais e corpo celular. Coloração de Weigert destaca padrões de fibras de mielina que revestem alguns tipos de axônios e facilitam a transmissão do potencial de ação. . . . . 22
- Figura 3 – Representação da ramificação dos neurônios em diferentes camadas corticais. 23
- Figura 4 – Principais ossos do crânio e lobos cerebrais. . . . . 25
- Figura 5 – O sistema nervoso central é descrito ao longo de três eixos principais e seus planos anatômicos que referenciam as estruturas cerebrais no estudo neuroanatômico. . . . . 26
- Figura 6 – Localização do Bregma e Lambda de um rato macho Wistar de 290g. . . . 27
- Figura 7 – O potencial de ação e a permeabilidade iônica da membrana celular. . . . 29
- Figura 8 – Estrutura genérica de um neurônio. . . . . 30
- Figura 9 – Representação de como é um sinal de LFP e representação de um spike sorting após a filtragem do dado bruto, separado os dados em clusters. . . 33
- Figura 10 – Descrição dos papéis dos participantes do grupo tutorial. . . . . 35
- Figura 11 – Diferentes tipos de rodopsinas (ChR, HR, BR/PR, OptoXR) permitindo fluxo de íons na membrana de acordo com cada rodopsina e comprimento da onda luminosa que cada rodopsina responde gerando inibição ou excitação. A rodopsina ChR é excitada por luz azul e permite influxo de Na<sup>+</sup> pela membrana. A rodopsina HR permite o influxo de Cl<sup>-</sup> pela membrana. A rodopsina BR/PR permite efluxo de H<sup>+</sup> pela membrana. . . . . 37
- Figura 12 – Injeção de vírus com opsina na região-alvo e dispositivo luminoso iluminando a área com a opsina . . . . . 38

Figura 13 – As seis etapas em que o camundongo era submetido nos experimentos de comportamento visual com sondas Neuropixels e o tempo médio de cada sessão. . . . .	44
Figura 14 – Visão geral da sessão experimental de treinamento realizada pelo <i>Allen Brain Observatory</i> em camundongos do dataset utilizado nesse trabalho. Primeira parte equivale a etapa de treinamento para detecção de mudança de imagens, após estarem aptos eram encaminhadas para a segunda parte em que a equipe de Neuropixels realizariam os experimentos eletrofisiológicos e de comportamento. A última etapa é referente ao optotagging, em que uma luz incidia na janela craniana do animal de forma a ver como isso afetaria a atividade do animal nos mesmos testes experimentais. . . . .	45
Figura 15 – Probe Neuropixel utilizada nos experimentos. Lado esquerdo com três ampliações diferentes, mostrando a posição dos locais (sites) de gravação, visualização ampliada do shank e visão geral da probe. Lado superior direito com um manipulador montado com sondas Neuropixel. Cada sonda está ligada a um manipulador independente de três eixos e é angulada para caber dentro de uma janela de gravação de cerca de 5 mm. Na parte inferior à direita, são apresentadas formas de onda 2D de 8 unidades gravadas em áreas cerebrais corticais e subcorticais usando sondas Neuropixels. Em cada gráfico, o eixo horizontal representa o tempo, enquanto o eixo vertical representa o local de gravação. A variação de cor indica a voltagem em unidades arbitrárias (os gráficos foram normalizados para comparação). Algumas das áreas citadas são: Anteromedial nucleus (AM), Rostral linear nucleus raphe (RL), Núcleo lateral posterior do tálamo (LP), central amygdaloid nucleus (Ce), superior colliculus (SC) . . . . .	47
Figura 16 – Visualização do site do Allen Brain Explorer com destaque para a área em que pode ser feita a pesquisa da região cerebral que se deseja observar. Essa área também permite a visualização dos acrônimos usados pelo Allen para as áreas cerebrais. . . . .	49
Figura 17 – Introdução do primeiro caderno sobre o AllenSDK (C1). . . . .	51
Figura 18 – Atualização do instalador <i>Python</i> e instalação do pacote <i>allensdk</i> disponibilizado pela biblioteca AllenSDK do Allen Instituto for Brain Science fornecidos pelo AllenSDK. . . . .	52

Figura 19 – Instalação de pacotes necessários para a execução das ferramentas utilizadas no caderno. . . . .	53
Figura 20 – Primeiro acesso aos dados com indicação do caminho do diretório onde os arquivos devem ser armazenados e código definindo que não se deve baixar o conjunto de dados por completo. . . . .	54
Figura 21 – Definição de uma variável sessions que vai armazenar uma tabela com todos os valores eletrofisiológicos das sessões e demais características do experimento dispostos em colunas, em que nessa figura só constam os cinco primeiros experimentos de um total de 103 linhas (experimentos) e as três primeiras colunas de 21 colunas. . . . .	56
Figura 22 – P1: Quantos animais têm idade maior que 100 dias e menor que 120 dias .	57
Figura 23 – P2: Como encontrar todas as gravações de camundongos fêmeas Sst que contêm unidades da área TH (tálamo) . . . . .	58
Figura 24 – Introdução do segundo caderno sobre o AllenSDK (C2) . . . . .	59
Figura 25 – Histograma. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias? . . . . .	60
Figura 26 – Código do histograma. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias? . . . . .	61
Figura 27 – Explicação do código. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias? . . . . .	61
Figura 28 – Histograma. P2: Como seria o histograma das idades dos animais do sexo masculino? . . . . .	62
Figura 29 – Código do histograma. P2: Como seria o histograma das idades dos animais do sexo masculino? . . . . .	63
Figura 30 – Histograma. P3: Como criar um histograma separando os animais de acordo com o genótipo? . . . . .	63
Figura 31 – Código do histograma. P3: Como criar um histograma separando os animais de acordo com o genótipo? . . . . .	64
Figura 32 – Histograma. P4: Como encontrar todas as gravações de camundongos machos separados por genótipo que contêm unidades da área TH (tálamo)? .	65
Figura 33 – Código do histograma. P4: Como encontrar todas as gravações de camundongos machos separados por genótipo que contêm unidades da área TH (tálamo)? . . . . .	65

Figura 34 – Representação de um histograma. . . . .	67
Figura 35 – Representação de um boxplot com o apontamento dos itens que o compõe em comparação com um gráfico de violino . . . . .	67
Figura 36 – Comparação de como fica a distribuição dos dados de uma distribuição normal representados em um histograma, boxplot e gráfico de violino, em que é possível ver como o gráfico de violino consegue abordar as informações presentes no histograma e no boxplot . . . . .	68
Figura 37 – Histograma. P1: Como é a distribuição do número de neurônios por número de animais? . . . . .	69
Figura 38 – Código do histograma. P1: Como é a distribuição do número de neurônios por número de animais? . . . . .	70
Figura 39 – Histograma. P2: Como seria a sobreposição dos histogramas do número de neurônios de animais machos e fêmeas . . . . .	70
Figura 40 – Código do histograma. P2: Como seria a sobreposição dos histogramas do número de neurônios de animais machos e fêmeas . . . . .	72
Figura 41 – Gráfico de violino com animais representados por traços verticais. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	72
Figura 42 – Gráfico de violino com quartis. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	73
Figura 43 – Código para visualização da quantidade de animais para cada genótipo. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	73
Figura 44 – Código do gráfico de violino. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	74
Figura 45 – Histograma. P4: Qual a distribuição do número de neurônios dos animais que contêm atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	74

Figura 46 – Código do histograma. P4: Qual a distribuição do número de neurônios dos animais que contêm atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior do tálamo) . . . . .	75
Figura 47 – Exemplo de um gráfico de raster e ilustração de alguns métodos diferentes para analisar o código neural. Cada linha horizontal pode ser interpretada como um axônio no qual vemos spikes viajando (da esquerda para a direita). 77	77
Figura 48 – Código. P1: Qual o sexo do animal selecionado para a sessão? . . . . .	78
Figura 49 – Código. P2: Quais são os diferentes genótipos armazenados no repositório? 79	79
Figura 50 – Código. P3: Com base nos genótipos desses dados que você visualizou em uma das primeiras perguntas desse caderno, algum era modificado geneticamente? . . . . .	79
Figura 51 – Código e histograma. P4: Apresente um histograma da taxa de disparo de cada neurônio. . . . .	81
Figura 52 – P5: Aproveitando o exemplo anterior, apresente o raster plot do neurônio 1053044447 no intervalo [1000,1002]s . . . . .	82
Figura 53 – Código. P5: Aproveitando o exemplo anterior, apresente o raster plot do neurônio 1053044447 no intervalo [1000,1002] . . . . .	82
Figura 54 – P6: Aproveitando a rotina implementada, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s . . . . .	83
Figura 55 – Código. P6: Aproveitando a rotina implementada, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s . . . . .	84
Figura 56 – P7: Aproveitando as rotinas implementadas, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1002]s, ordenado pela taxa de disparo. . . . .	84
Figura 57 – Código. P7: Aproveitando as rotinas implementadas, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s, ordenado pela taxa de disparo. . . . .	85
Figura 58 – QR Code dos cadernos gerados . . . . .	85

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABA</b>	Allen Brain Atlas
<b>ABP</b>	Aprendizado Baseado em Problema
<b>AM</b>	Anteromedial nucleus
<b>API</b>	Application Programming Interface
<b>BR/PR</b>	Bacteriorhodopsin ou proteorhodopsin
<b>Ce</b>	central amygdaloid nucleus
<b>Cetic</b>	Centro Regional de Estudos para o Desenvolvimento da Informação
<b>ChR</b>	Channelrhodopsin
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic acid
<b>EEG</b>	Eletroencefalograma
<b>FGVcia</b>	Centro de Tecnologia de Informação Aplicada da Faculdade Getúlio Vargas
<b>HR</b>	Halorhodopsins
<b>IDE</b>	Integrated Development Environment
<b>ISH</b>	In Situ Hybridization
<b>LFP</b>	Local Field Potential
<b>LP</b>	Núcleo lateral posterior do tálamo
<b>MRI</b>	Magnetic Resonance Imaging
<b>MUA</b>	Multi-Unit Activity
<b>OptoXR</b>	Rhodopsin-GPCR (G protein-coupled receptor)
<b>PBL</b>	Problem-Based Learning
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>RL</b>	Rostral linear nucleus raphe
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>RNA</b>	Ribonucleic acid
<b>SC</b>	superior colliculus

<b>SNA</b>	Sistema Nervoso Autônomo
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervoso Periférico
<b>SUA</b>	Single-Unit Activity
<b>TH</b>	Tálamo
<b>UFSM</b>	Universidade Federal de Santa Maria

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> . . . . .	<b>16</b>
1.1	OBJETIVOS . . . . .	18
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> . . . . .	<b>19</b>
2.1	PRIMEIROS MAPAS DO ENCÉFALO . . . . .	19
2.2	ANATOMIA GERAL DO SISTEMA NERVOSO HUMANO . . . . .	24
2.3	ANATOMIA GERAL DO SISTEMA NERVOSO DO CAMUNDONGO . . . . .	26
2.4	POTENCIAL DE AÇÃO . . . . .	28
2.5	SPIKE SORTING . . . . .	29
2.6	LOCAL FIELD POTENTIAL (LFP) . . . . .	33
2.7	APRENDIZADO BASEADO EM PROBLEMA . . . . .	34
2.8	OPTOGENÉTICA . . . . .	36
2.9	APPLICATION PROGRAMMING INTERFACE (API) . . . . .	38
2.10	INSTITUTO ALLEN . . . . .	40
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> . . . . .	<b>43</b>
3.1	COMPORTAMENTO VISUAL COM NEUROPIXEL: VISÃO GERAL SOBRE OS EXPERIMENTOS EM CAMUNDONGOS REALIZADOS PELO <i>ALLEN BRAIN OBSERVATORY</i> . . . . .	43
<b>3.1.1</b>	<b>Tarefa de detecção de mudança de imagem</b> . . . . .	<b>44</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Gravações com neuropixels</b> . . . . .	<b>46</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Estrutura dos dados</b> . . . . .	<b>46</b>
3.2	ALLEN BRAIN EXPLORER . . . . .	48
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> . . . . .	<b>50</b>
4.1	PRIMEIRO CADERNO: VISÃO GERAL DO ALLENSDK E ACESSO AOS DADOS . . . . .	50
4.2	SEGUNDO CADERNO: VISUALIZAÇÃO GRÁFICA BÁSICA DAS SESSÕES . . . . .	58
4.3	TERCEIRO CADERNO: MEDIDAS BÁSICAS DA ATIVIDADE UNITÁRIA. . . . .	65
4.4	QUARTO CADERNO: VISUALIZAÇÃO BÁSICA DA ATIVIDADE DO NEURÔNIO E POPULAÇÃO DE NEURÔNIOS. . . . .	75
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> . . . . .	<b>86</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	<b>87</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Sendo a neurociência uma área de estudo em expansão, graças ao Sistema Nervoso e sua complexidade, como é o caso do Sistema Nervoso Central composto por células gliais e neurônios, em que esses últimos estabelecem múltiplas conexões e comunicações entre si, gerando uma grande rede de informações para processamento e tendo o envelhecimento populacional a possibilidade de trazer um maior número de doenças neurológicas e neurodegenerativas em decorrência da idade, faz-se importante o estudo dessa área de forma a tentar amenizar as dificuldades que poderiam atingir a população, bem como compreender os processos que operam os circuitos neurais, as doenças que o atingem, sua forma e função.

O sistema nervoso central é um importante sistema de comunicação e processamento de interação entre o meio interno e externo, o organismo e o ambiente, com isso, devido a sua complexidade, quanto mais esforços e pessoas focadas em estudá-lo, melhor. Atualmente existem tecnologias e equipamentos que permitem o estudo e mapeamento do cérebro de forma não invasiva como a Ressonância Magnética Funcional, mas também métodos como a análise genética por sequenciamento genético, análise da expressão gênica e optogenética, tornando esse estudo um pouco mais acessível para o meio acadêmico.

O desenvolvimento de microeletrodos mais precisos e capazes de registrar diferentes células simultaneamente facilita o estudo mais amplo e real das conexões cerebrais e hoje com tecnologias como o Google Colaboratory é possível realizar a análise desses dados de forma virtual sem a necessidade da instalação de programas em um aparelho/computador físico. Utilizando-se de metodologias como as já aplicadas atualmente na área de saúde como Aprendizado Baseado em Problemas (ABP) é possível desenhar cadernos de estudos de neuroanatomia e neurofisiologia de experimentos já existentes como os produzidos pelo Instituto Allen para análise dos dados e verificação de spikes e Local Field Potential (LFP), entre outras pesquisas com os dados públicos que desenvolvem uma ciência aberta.

O século XXI se apresenta como uma era digital em que os avanços tecnológicos tendem a ajudar a acelerar e aprimorar os conhecimentos humanos. Segundo pesquisa, de 2023, do Centro de Tecnologia de Informação Aplicada da Faculdade Getúlio Vargas (FGVcia), o Brasil possui mais de dois dispositivos digitais (computadores, notebooks, smartphones e outros) por habitante (FGVCIA, 2023) e de acordo com matéria da Agência Brasil, publicada em 2022 com base em dados do Centro Regional de Estudos para o Desenvolvimento da Informação (Cetic),

---

cerca de 82% dos domicílios brasileiros possuem acesso à internet. Esses números apontam que parece ser viável o emprego de metodologias de estudo, ensino e pesquisa de forma aberta e livre para o grande público com o uso de computadores com conectividade à internet (BRASIL, 2022).

O ensino de neurociências e neuroanatomia no campo escolar não parece ser estimulado e desenvolvido como está sendo o caso da computação e robótica que atualmente estão mais presentes em escolas, sendo que o ensino dessas duas últimas matérias não eram comuns até o século passado. Recentemente, tornou-se mais acessível um conjunto moderno de informações para o estudo do sistema nervoso, sendo este valioso tanto para o ensino quanto para a pesquisa desse sistema vital. Esse cenário cria um potencial significativo para atividades de ensino direcionadas à formação de recursos humanos qualificados, capazes de lidar com essas informações avançadas sobre o sistema nervoso, desde a graduação até a pós-graduação.

O estudo desse sistema fornece informações bastante importantes sobre o funcionamento do corpo. No caso de seres humanos, o envelhecimento da população mundial traz consigo o crescimento do número de doenças relacionadas ao cérebro, então, quanto mais estudos e trabalhos existirem sobre esse órgão e o sistema a que ele pertence, melhores serão as chances de oferecer uma qualidade de vida saudável e/ou adequada para a população com base no entendimento do funcionamento do sistema nervoso e as doenças que o atinge (KANDEL et al., 2013).

Investir na área de neurociências não traz retorno apenas para a comunidade científica, mas também pode dar frutos em áreas econômicas e previdenciárias de um país, já que esse envelhecimento populacional, juntamente com o aumento da degeneração neurológica, produz um peso para os sistemas de saúde e financeiros, pois uma pessoa acometida por problemas como demência tende a necessitar de suporte e estudos apontam que os custos relativos ao cuidado com a demência atingiram um número de 1% do Produto Interno Bruto (PIB) mundial em 2010 (INTERNATIONAL, 2013). Quanto mais cedo o diagnóstico e a descoberta de tratamentos, melhores serão os resultados no enfrentamento dessas questões e esse é um dos pontos em que estudos neurocientíficos podem contribuir.

Há muito o que se estudar sobre o cérebro, tendo em vista essa problemática do envelhecimento populacional, bem como a busca pela melhoria nos estudos e pesquisas na área de Neurociências, foi que por volta do início do século XXI, um grupo de cientistas liderados por James Watson, Steven Pinker e outros, se reuniu buscando debater e discutir ideias que permitissem uma maior colaboração entre profissionais para decidir o que poderia ser feito

para ajudar a impulsionar a investigação em neurociências. Ficou decidido que o trabalho que poderia trazer grande valor e benefício para a comunidade acadêmica seria a criação de um Atlas Interativo do Cérebro, que foi chamado de *Allen Brain Atlas (ABA)* (JONES; OVERLY; SUNKIN, 2009).

## 1.1 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo a descrição de alternativas recentes de recursos para estudo de forma e função de múltiplas áreas do sistema nervoso. De maneira mais específica, esperamos ao final dele ter os seguintes produtos:

- Um conjunto com textos e slides descritivos destas alternativas recentes;
- Um conjunto de cadernos didáticos interativos online para o ensino do uso básico de dados de última geração sobre a atividade elétrica de múltiplas áreas do sistema nervoso.

Além de uma descrição geral das alternativas recentes para o estudo da anatomia e função do sistema nervoso, espera-se neste trabalho a produção de material didático para o uso no ensino baseado em tais recursos. Isso implicará principalmente em: breves apresentações (slides) com os conceitos introdutórios; um conjunto de cadernos interativos com exemplos de aplicações de recursos a partir do uso da linguagem *Python* e do acesso online das bases de dados utilizadas neste trabalho.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 PRIMEIROS MAPAS DO ENCÉFALO

As principais evidências da localização de áreas corticais relacionadas com funções específicas se deram por meio de estudos em pacientes com alguma doença e, inicialmente nesse caso, doenças relacionadas com a linguagem (KANDEL et al., 2014). Um dos primeiros mapeamentos cerebrais classificados de acordo com a função que a área cerebral exercia foi proposto por Pierre Paul Broca e foi fruto do estudo do cérebro de pacientes que apresentavam alguma doença relacionada com a comunicação e a fala quando tinham essa área cortical lesionada. Essa área até hoje possui o nome de Área de Broca em homenagem a esse cientista e a descoberta da área se deu pelo estudo de pacientes com afasia, que corresponde a uma disfunção na comunicação que pode ser desenvolvida na recepção da informação, expressão ou condução. A afasia descoberta por Broca tinha relação com a expressão, os pacientes conseguiam entender a linguagem, mas não conseguiam falar, se expressar (KANDEL et al., 2014).

Outro grande cientista que estudou o córtex cerebral relacionando a problemas na comunicação foi Karl Wernicke, ele descobriu um outro tipo de afasia, a que estava relacionada com a recepção, em que os pacientes conseguiam falar, mas não compreendiam a linguagem. A área descoberta por Wernicke recebeu o nome de Área de Wernicke em sua homenagem, assim como a área de Broca (KANDEL et al., 2014).

O cientista Charles Darwin foi um dos primeiros a propor o uso de animais como cobaias para o estudo do comportamento humano (KANDEL et al., 2014). Isso permitiu o desenvolvimento de pesquisas e estudos em animais, em vez de em humanos, já que esse último grupo possui questões éticas de pesquisa muito mais restritivas que em animais. Essa ideia de Darwin influenciou as pesquisas de Korbinian Brodmann na comparação entre cérebros humanos e de outros mamíferos em sua monografia de 1909 (ZILLES; AMUNTS, 2010).

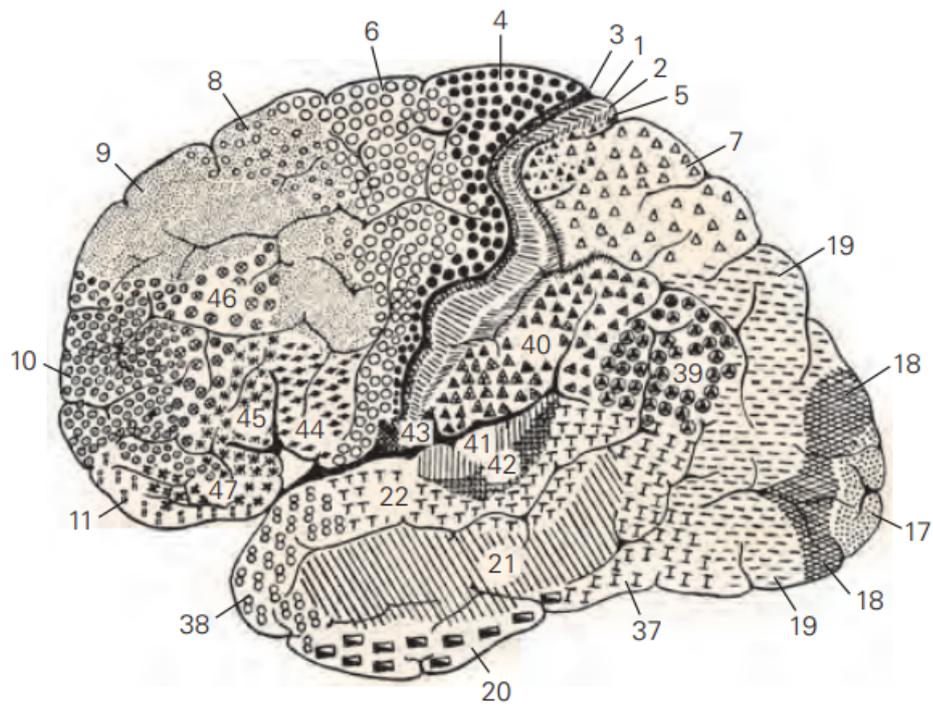
O pesquisador alemão Korbinian Brodmann mapeou o cérebro em 52 áreas distintas e numeradas de 1 a 52, organizadas citoarquiteticamente, isto é, ele separou as áreas de acordo com a organização e o tipo das células visualizadas na região estudada (KANDEL et al., 2014; ZILLES; AMUNTS, 2010), isso porque o córtex possui camadas numeradas do meio mais externo para o mais interno e cada camada é composta por um estilo de célula predominante, dessa forma, ao analisar o cérebro, Brodmann separou as regiões pelas células que compunham o local, conforme a Figura 1. As camadas do córtex são expostas nas Figuras 2 e 3, sendo

que na Figura 2 também está descrito o tipo de método de coloração utilizado para visualizar cada camada, porque o tecido neural quando seccionado não apresenta coloração e parece algo transparente, ao realizar a coloração por diferentes tipos de métodos como de Golgi, Nissl ou Weigert, cada uma das estruturas do neurônio fica visível conforme exposto na figura.

- Camada I (molecular): composta por poucos neurônios e possui dendritos dos neurônios de camadas mais profunda.
- Camada II (granular externa): composta principalmente por células granulares, como células estreladas e células piramidais pequenas, daí o nome da camada. Recebe sinais da camada I e envia sinais para outras áreas do córtex cerebral e para estruturas subcorticais.
- Camada III (piramidal externa): geralmente contém células piramidais de tamanho médio.
- Camada IV (granular interna): contém grande número de neurônios esféricos.
- Camada V (piramidal interna): composta principalmente por células piramidais maiores que as que compõem a camada III, conforme é visto na Figura 2.
- Camada VI (multiforme): possui células variadas, bastante heterogêneas em sua forma.

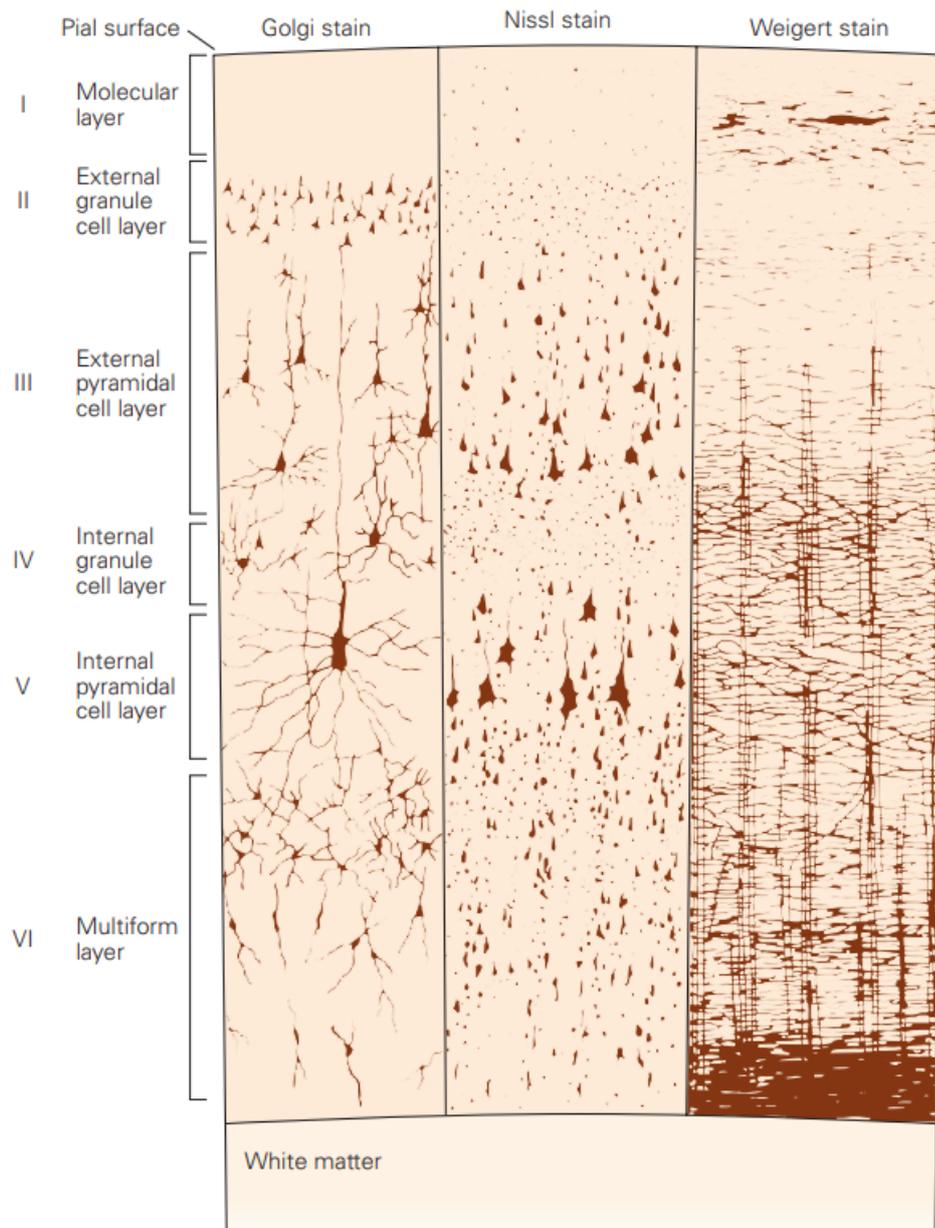
Brodmann foi um dos primeiros a desenvolver um mapa do córtex cerebral, por isso é reconhecido até hoje como pioneiro na área de atlas cerebrais. Brodmann representou o mapa do cérebro humano com 43 áreas, deixando de fora da representação as áreas 12 a 16 e 48 a 51. Ele fazia a comparação entre as áreas obtidas da análise do cérebro humano com a de outros mamíferos, a explicação dessas áreas que não foram representadas no mapa do cérebro humano é que algumas áreas não são identificáveis no cérebro humano, embora bem desenvolvidas em outros animais.

Figura 1 – Mapa citoarquitetônico com 52 áreas proposto por Brodmann em que cada área tende a representar a diferença na citologia de cada estrutura cerebral ao longo do córtex.



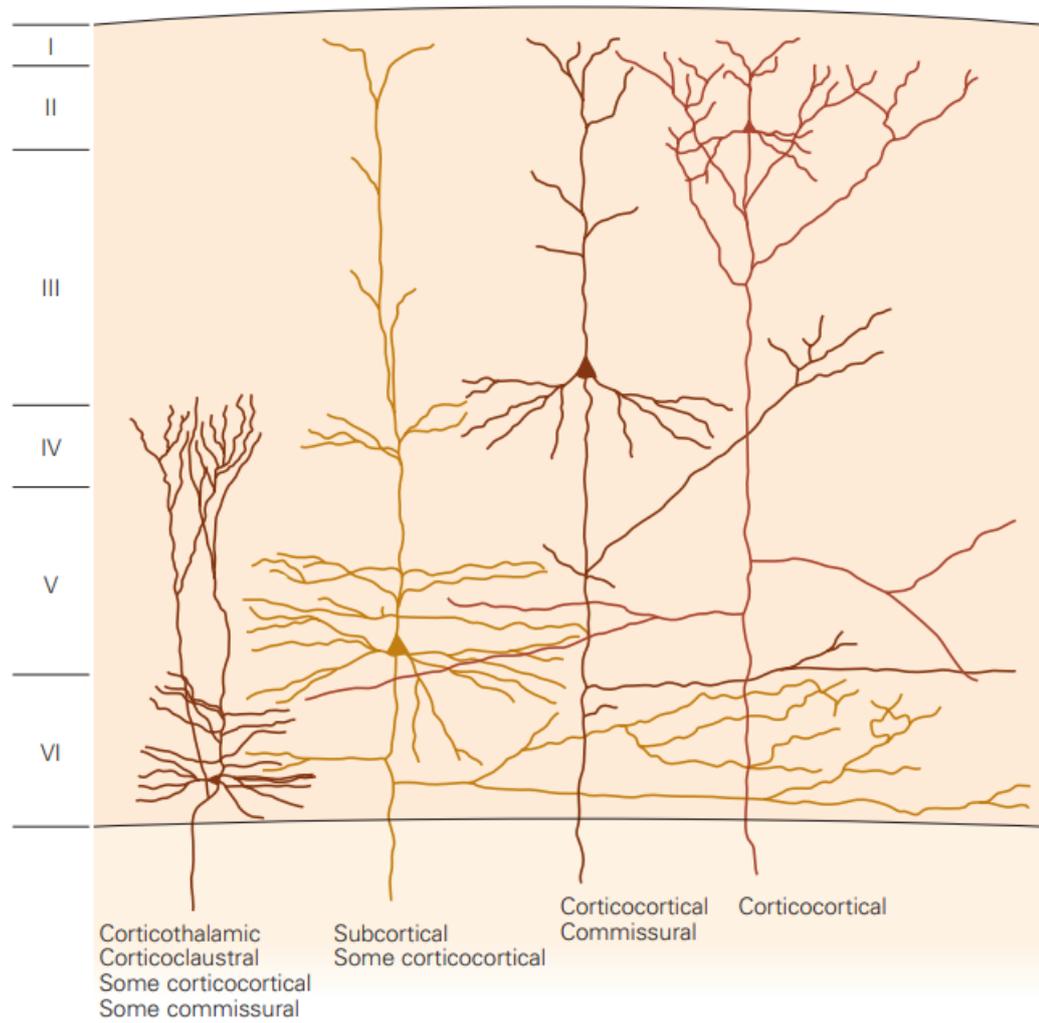
Fonte: (KANDEL et al., 2021)

Figura 2 – Representação dos neurônios em diferentes camadas corticais e o tipo de coloração utilizada para conseguir visualizar a célula. Coloração de Golgi destaca os dendritos, axônios e corpo celular do neurônio. Coloração de Nissl destaca os dendritos proximais e corpo celular. Coloração de Weigert destaca padrões de fibras de mielina que revestem alguns tipos de axônios e facilitam a transmissão do potencial de ação.



Fonte: (KANDEL et al., 2021)

Figura 3 – Representação da ramificação dos neurônios em diferentes camadas corticais.



Fonte: (KANDEL et al., 2021)

## 2.2 ANATOMIA GERAL DO SISTEMA NERVOSO HUMANO

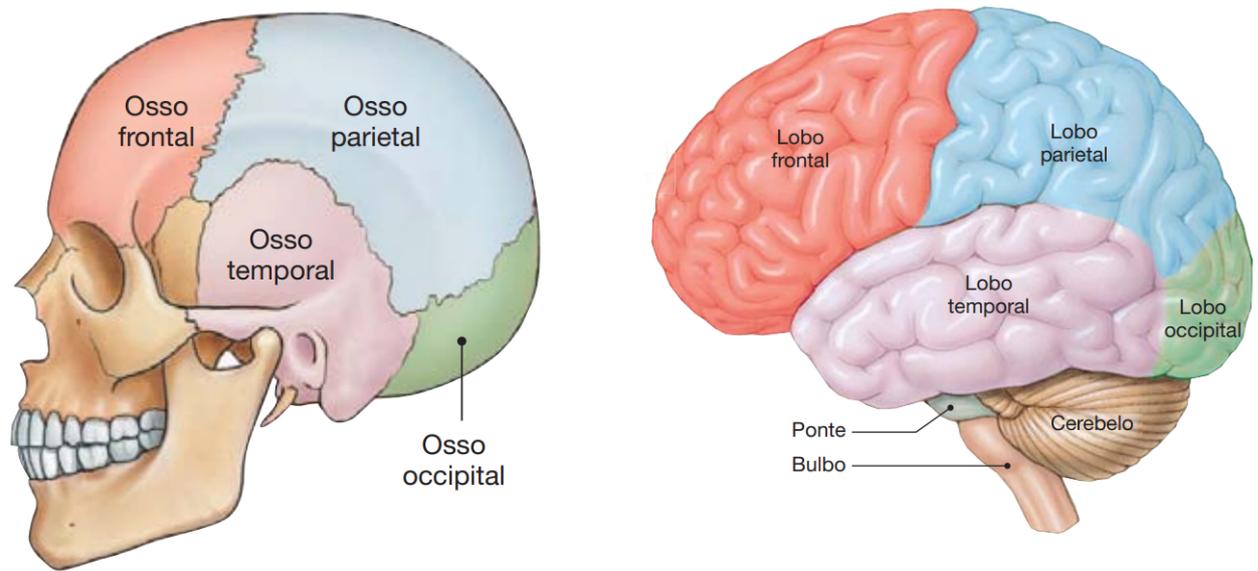
O sistema nervoso está subdividido em três regiões principais: Sistema Nervoso Central (SNC), Sistema Nervoso Periférico (SNP) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA). Esse trabalho falará mais sobre o SNC que é um dos sistemas mais importantes do corpo humano, responsável por processar e responder conforme o estímulo recebido do meio externo, realizar tomada de decisão e aprendizagem, regulação do corpo, controle motor, entre outros (KANDEL et al., 2014).

No processo de desenvolvimento embrionário humano, o embrião se desenvolve por meio de três camadas germinativas primordiais: a ectoderme, a endoderme e a mesoderme. A camada de células da ectoderme, folheto mais externo, é a que dá origem ao sistema nervoso central, epiderme, SNP, entre outras partes do corpo. O SNC humano terá origem por um processo que se completa por volta da quarta semana de gestação, quando a camada de células da ectoderme se organizam em um processo que dá-se o nome de neurulação, em que ocorre a formação do tubo neural. O SNC é composto por encéfalo e medula espinhal. É por meio desse sistema, que é possível perceber e se relacionar com o ambiente, mas não é só isso, esse sistema também é responsável pela regulação e controle de muitas funções internas, raciocínio, memória, locomoção e funcionamento do organismo do indivíduo (SILVERTHORN, 2017; MACHADO; HAERTEL, 2013).

Conforme o cérebro humano se desenvolve, o crescimento do encéfalo não acompanha totalmente o crescimento da caixa craniana, por causa disso, para que a estrutura cerebral possa ser acomodada no crânio, a evolução fez com que o encéfalo desenvolvesse sulcos e convoluções para que coubesse dentro da caixa craniana, como uma forma de compactar todas as células no espaço ósseo que lhe foi proporcionado. Os sulcos cerebrais mais comuns possuem nomes e são classificados com base nos nomes dos ossos cranianos da região em que se encontram. Os maiores ossos do crânio são frontal, temporal, parietal e occipital. Observar Figura 4.

O encéfalo humano é constituído por uma rede de diversas células nervosas interconectadas, com número estimado entre 80 e 100 bilhões de células (KANDEL et al., 2014; KANDEL et al., 2021; HALL; HALL, 2020). É por meio da conexão dessas células que são formadas as percepções do mundo, respostas aos estímulos do ambiente, ações, pensamentos, entre outras atividades. Entender como funcionam essas conexões e como esse conjunto de células está organizado é uma importante ferramenta para tentar compreender como o cérebro trabalha.

Figura 4 – Principais ossos do crânio e lobos cerebrais.



Fonte: Adaptado de (SILVERTHORN, 2017)

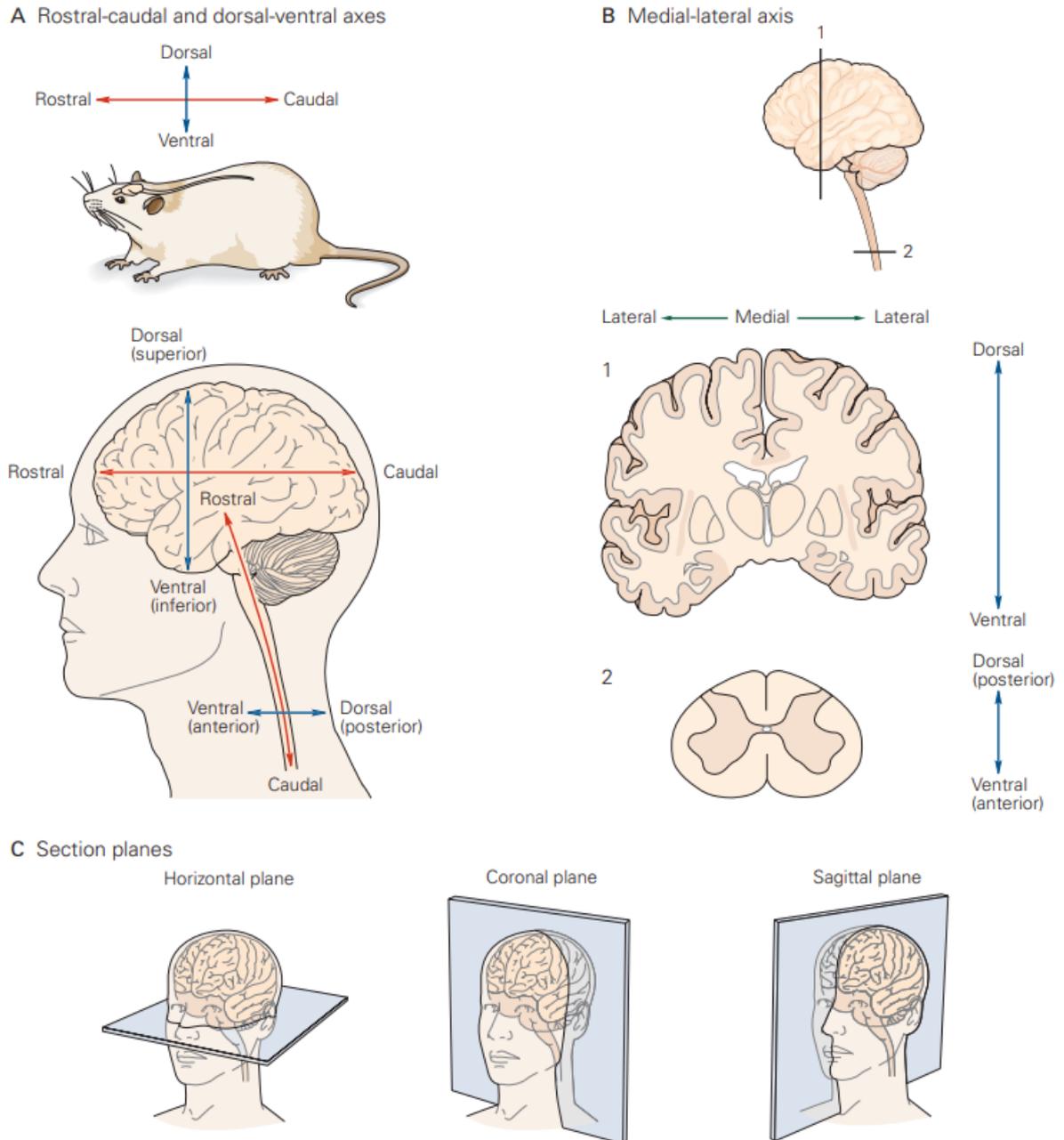
A palavra anatomia tem origem no grego antigo (ana = através de; tome = corte) e seu significado equivaleria a dividir uma estrutura em seções/partes, os chamados tomos. Caso essa divisão fosse feita de forma aleatória, isso dificultaria o estudo e comparação das partes por diferentes estudiosos pela falta de um referencial. Assim como na anatomia do corpo, a neuroanatomia também dispõe de termos e referências que visam facilitar e organizar o estudo das áreas cerebrais. São planos ou cortes anatômicos usados para estudar a organização e estrutura do sistema nervoso (KANDEL et al., 2021). Alguns dos principais planos usados serão explicados abaixo assim como expostos na Figura 5:

Plano sagital - corte longitudinal que divide o corpo em duas partes, lado esquerdo e direito. Plano muito útil para se estudar a simetria de um corpo.

Plano coronal ou frontal - corte perpendicular ao eixo longitudinal e que divide o corpo em anterior e posterior. É um plano útil para se analisar a posição da estrutura com relação a parte anterior ou posterior do corpo.

Plano horizontal ou transversal - corte perpendicular ao plano sagital que divide o corpo em superior e inferior.

Figura 5 – O sistema nervoso central é descrito ao longo de três eixos principais e seus planos anatômicos que referenciam as estruturas cerebrais no estudo neuroanatômico.



Fonte: (KANDEL et al., 2021)

### 2.3 ANATOMIA GERAL DO SISTEMA NERVOSO DO CAMUNDONGO

A existência de um referencial é crucial para a análise, padronização, replicação do experimento e estudo do que está sendo analisado. São importantes em estudos anatômicos e em cirurgias, em que com base nessas referências e um atlas é possível encontrar determinadas estruturas no encéfalo, além de facilitar a comunicação entre pesquisadores. Nesse sentido, alguns pontos de referência utilizados na neuroanatomia do camundongo são explicados abaixo

e essas regiões correspondentes ao crânio de um rato Wistar serão expostas na Figura 6:

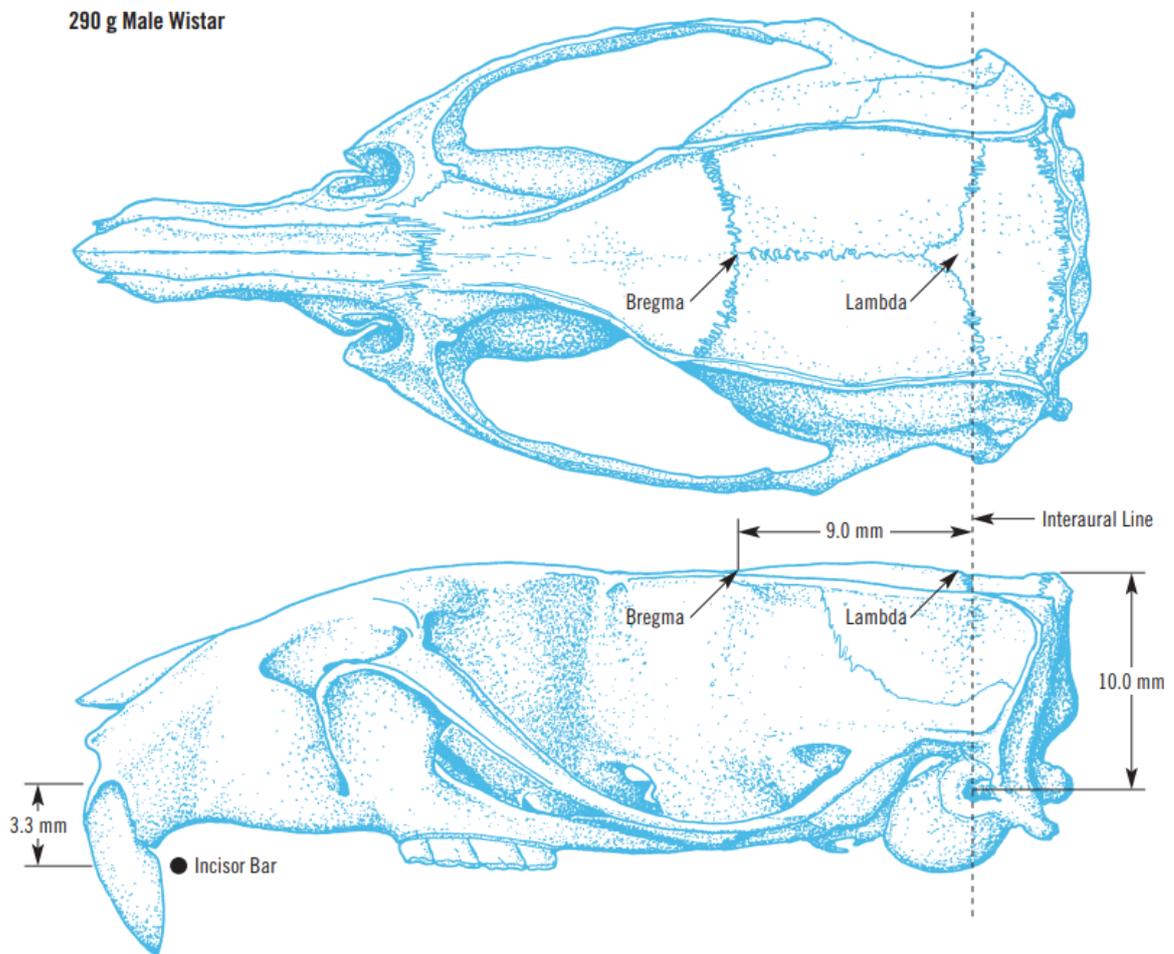
Bregma - ponto de referência localizado na sutura entre os ossos parietal e frontal do crânio.

Lambda - ponto de referência localizado na sutura entre os ossos parietal e occipital do crânio.

Cerebelo - localizado na região posterior do cérebro e abaixo do córtex cerebral.

Estruturas específicas do cérebro - estruturas já conhecidas e bem definidas como hipotálamo, tálamo, córtex cerebral, amígdala, além de outras estruturas são utilizadas como pontos de referência para estudar e localizar áreas específicas dentro do cérebro do camundongo.

Figura 6 – Localização do Bregma e Lambda de um rato macho Wistar de 290g.



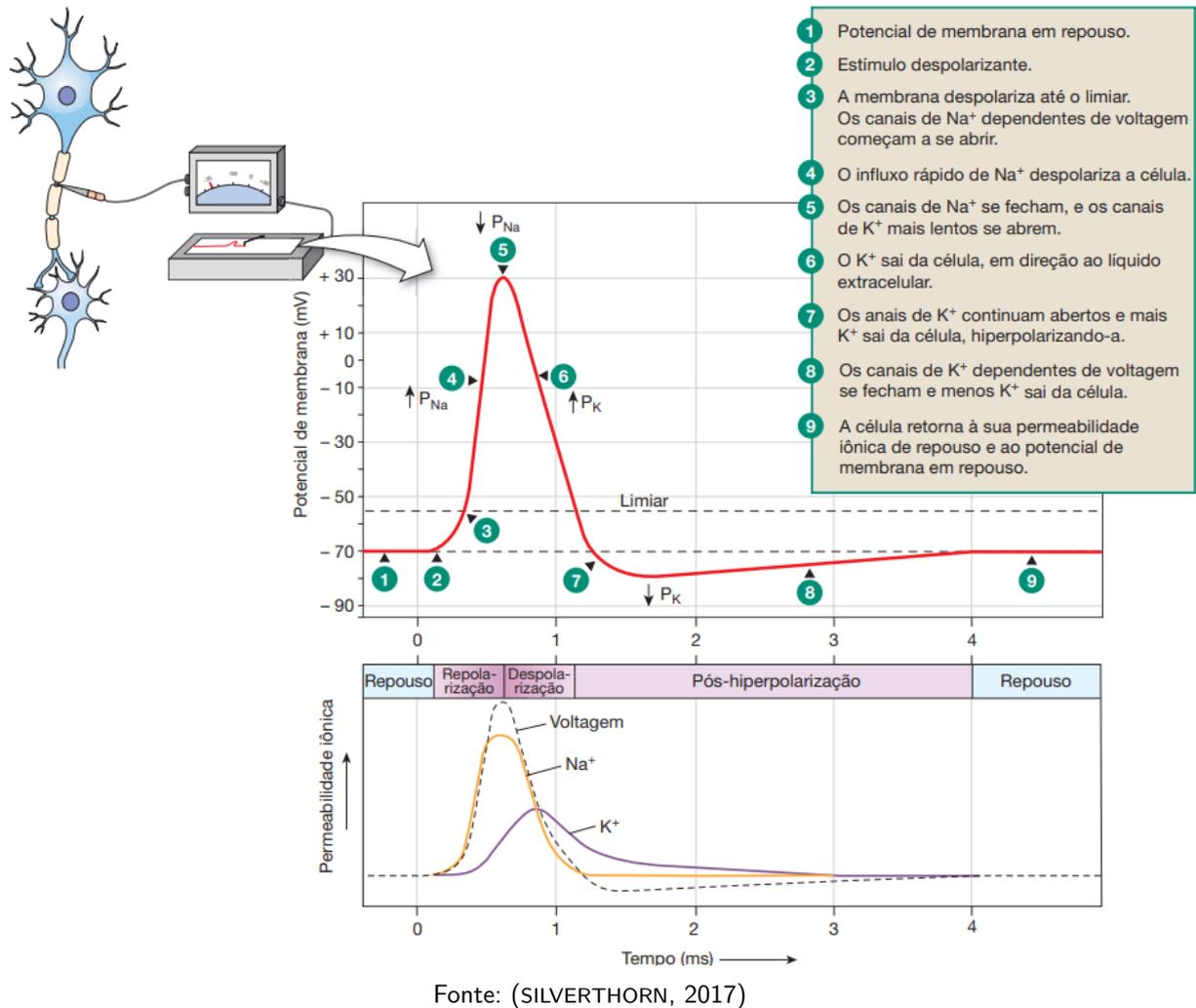
Fonte: (PAXINOS; WATSON, 2005)

## 2.4 POTENCIAL DE AÇÃO

Um dos primeiros estudos sobre potencial de ação foi realizado por Hodgkin e Huxley analisando a atividade elétrica detectada por um eletrodo colocado no axônio gigante de lula. O potencial de ação é uma mudança elétrica brusca e temporária na membrana de uma célula, em especial células musculares ou nervosas. Ele é responsável por transmitir informações e gerar a comunicação entre essas células. A membrana celular é composta por canais permeáveis a sódio, potássio e outros íons, sendo a presença do potássio mais comum no meio interno e a presença do sódio mais comum no meio externo.

Existem diferentes tipos de canais e formas de ativá-los ou desativá-los, os dependentes de voltagem como é o caso dos canais de sódio tendem a abrir de acordo com a voltagem permitindo o influxo de sódio na célula, o que gera uma variação no gradiente de concentração da membrana celular, gerando o potencial de ação. Uma vez aberto, o canal não pode ser mais ativado até que um determinado instante de tempo tenha se passado. O período em que a célula não pode ser estimulada após um potencial de ação é chamado de período refratário e está dividido em período refratário absoluto e relativo. No período refratário absoluto, independente do estímulo fornecido, não haverá outro potencial de ação, isso ocorre porque há um grande número de canais de sódio inativos. Já no período refratário relativo, é possível haver um segundo potencial de ação, porém com intensidade menor que o primeiro, porque ainda existem canais de sódio que estão inativos. Existe o período de despolarização, repolarização e hiperpolarização, tudo isso acontece de acordo com a permeabilidade da membrana aos íons. Na Figura 7 é possível observar o comportamento de um potencial de ação. (BARNETT; LARKMAN, 2007)

Figura 7 – O potencial de ação e a permeabilidade iônica da membrana celular.

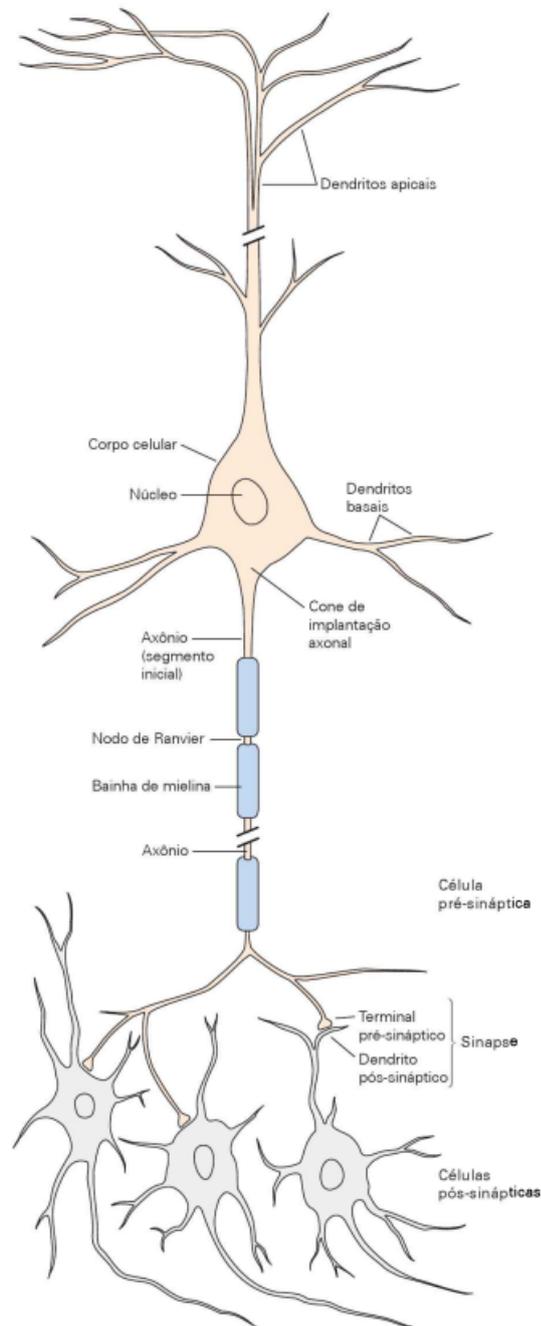


## 2.5 SPIKE SORTING

A descoberta realizada no final do século XVIII por Luigi Galvani de que o músculo e as células nervosas possuem eletricidade, fez com que se desenvolvessem estudos sobre eletrofisiologia do sistema nervoso (KANDEL et al., 2021). Atualmente, a estrutura do neurônio já é conhecida (dendritos, corpo celular, axônio e terminal sináptico, conforme exposto de forma genérica na Figura 8) de tal forma que são comuns estudos que trabalham com a análise do sinal elétrico obtido pela transmissão e/ou recepção de uma informação pelo neurônio.

Por volta de 1957, Hubel desenvolveu um eletrodo capaz de registrar a atividade elétrica de neurônios individuais (HUBEL, 1957). O microeletrodo com ponta de Tungstênio apresentou-se mais eficiente que micropipetas feitas de vidro, que podiam quebrar devido ao seu fino diâmetro e característica do material ou entupirem caso o diâmetro da micropipeta fosse aumentado para que conseguisse atravessar as meninges do cérebro, especialmente a dura-máter e a aracnoide,

Figura 8 – Estrutura genérica de um neurônio.



Fonte: (KANDEL et al., 2014)

já que são mais espessas, além de causarem um maior dano ao tecido neural pela maior espessura do eletrodo. Desta forma, a criação de Hubel possibilitou a elaboração de eletrodos mais finos e resistentes que eram capazes de penetrar as meninges e demais estruturas do sistema nervoso sem quebrar e com isso acessar um neurônio individual e registrar seus sinais.

Os avanços tecnológicos nas últimas décadas possibilitaram que a análise e detecção do sinal neuronal fosse realizada por mais canais, permitindo a aquisição de mais dados durante

---

o experimento e a distribuição em várias áreas do cérebro simultaneamente, como é o caso das sondas Neuropixel que foram utilizadas nos experimentos do *Allen Institute for Brain Science* (STEVENSON; KORDING, 2011; JUN et al., 2017).

Teoricamente, cada neurônio produz uma resposta característica, um spike que corresponde a um potencial de ação, ou seja, quando a célula é estimulada e esse estímulo atinge um determinado limiar, sua resposta pode gerar um pico (spike) característico daquela célula que tem relação com a despolarização do seu potencial de membrana, respeitando uma relação entre o gradiente de concentração entre o meio intra e extra-celular e também o período refratário da célula. Ao realizar a aquisição do sinal extra-celular por meio de múltiplos eletrodos, a pessoa responsável por esse trabalho recebe um dado bruto que contém múltiplas informações que precisam ser classificadas para que seja possível determinar o que é ruído ou neurônio putativo (provável). Com isso, tem-se o que é resposta de um único neurônio e o que é resposta de múltiplos neurônios, para que após esse processamento seja possível interpretar os dados que foram captados pelos eletrodos.

Hipoteticamente, quanto mais eletrodos e canais, maiores seriam os números de células captadas e melhores os resultados das pesquisas, porque teria-se uma amostra significativa de neurônios representando o conjunto neural, entretanto, quanto maior o número do dado, maior a demanda de processamento computacional para que seja feita a análise desses dados, além do problema intitulado a *maldição da dimensionalidade*, em que o aumento do número de dimensões do experimento aumenta também o ruído no sinal.

*Spike sorting* é um método de classificação dos spikes obtidos em uma gravação que busca separar os spikes em clusters (conjuntos) (QUIROGA, 2012). Essa classificação facilita o estudo dos dados do sinal neuroeletrofisiológico. Existem diferentes tipos de algoritmos que fazem essa separação e classificação dos spikes (LEWICKI, 1998; ROSSANT et al., 2016) sendo que também é necessário um trabalho manual para a validação de algumas classificações já que o algoritmo, em algumas situações como sobreposições de spikes, não pode classificar as unidades neurais com precisão adequada, mesmo nos dias atuais em que o processamento computacional já está tão avançado (ROSSANT et al., 2016).

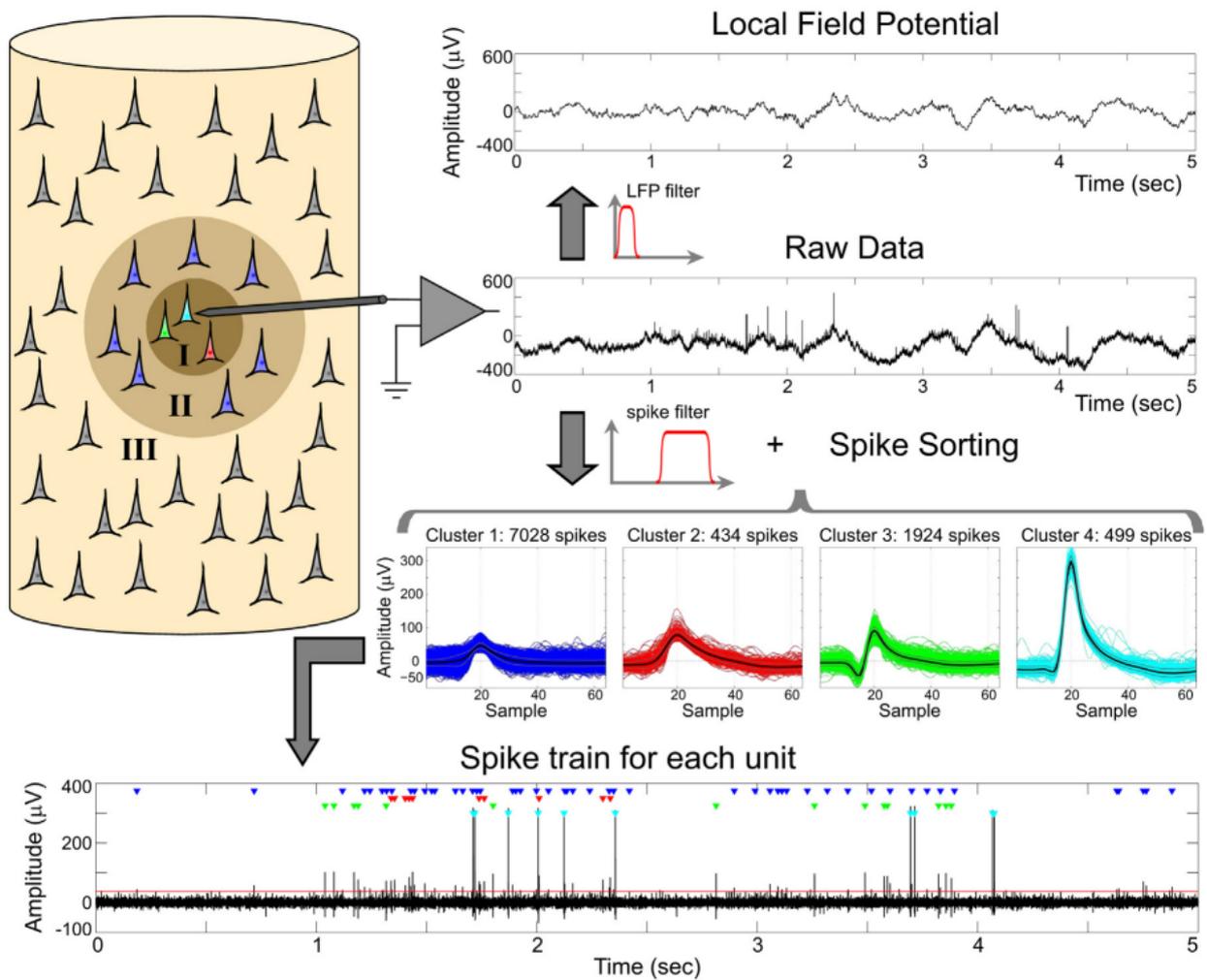
Os programas utilizados na classificação dos spikes mais atuais já trabalham com deslocamento de eletrodos, tendo em vista que ao inserir o eletrodo no cérebro, existe uma reação e adaptação do organismo ao corpo estranho, fazendo o eletrodo se movimentar e isso pode alterar os valores obtidos nas gravações e atrapalhar a análise final. Os algoritmos desses programas utilizam muitos modelos matemáticos e conhecimentos de estatística e ciência de

---

dados para determinar algumas probabilidades com relação aos spikes, entre eles a frequência de Nyquist para determinar a taxa de amostragem mínima para se obter um bom sinal digital do dado analógico captado. Alguns desses programas são *KlustaKwik*, *KlustaViewa*, *SpikeDetekt* (ROSSANT et al., 2016).

Com base na distância do sinal obtido até o eletrodo e no tempo do disparo, é possível supor a classificação do spike. Ou seja, se o spike tem origem de uma única célula (geralmente a 50 micrômetros da ponta do eletrodo e com amplitude de pico maior que a dos demais), se é um spike de múltiplas células ou se é ruído. As classificações são chamadas *Single-Unit Activity (SUA)*, *Multi-Unit Activity (MUA)* e *noise* (ruído), respectivamente. Existe uma relação espaço-temporal para a classificação do spike, já que pode haver uma sobreposição espacial ou temporal dos spikes e é necessário determinar se aquele disparo pertence a apenas uma célula, a múltiplas células ou se os disparos ocorreram em tempos diferentes. Usualmente, os sinais de baixa frequência do dado são associados ao Potencial de Campo Local ou do inglês *LFP*. Observar Figura 9

Figura 9 – Representação de como é um sinal de LFP e representação de um spike sorting após a filtragem do dado bruto, separado os dados em clusters.



Fonte: (REY; PEDREIRA; QUIROGA, 2015)

## 2.6 LOCAL FIELD POTENTIAL (LFP)

O LFP é o registro da atividade elétrica em profundidade cortical realizada por meio de eletrodos no meio extracelular e que transmite ao avaliador informações complementares às que são fornecidas pelos spikes (potencial de ação). A formação do potencial de campo local (LFP) se dá por meio da corrente elétrica e cargas das células cerebrais (neurônios e células glia). Ele difere do Eletroencefalograma (EEG) porque este tem o sinal captado por meio de eletrodos colocados na superfície do couro cabeludo, enquanto o LFP é captado por microeletrodos no meio intracraniano, no córtex cerebral, ou seja, é mais invasivo. (DESTEXHE; BEDARD, 2013)

## 2.7 APRENDIZADO BASEADO EM PROBLEMA

O Aprendizado Baseado em Problema (ABP), em português, ou do inglês *Problem-Based Learning (PBL)*, é uma proposta pedagógica que tem como ideia tornar o aluno o centro do aprendizado, focando na criação de habilidades autônomas, integração de conhecimentos e inicialmente na execução de um trabalho em grupo, buscando desenvolver um pensamento crítico com base na resolução de problemas que podem ser reais, simulados ou outros (BORGES et al., 2014).

Esse tipo de ensino é mais comum em cursos da área de saúde, como medicina, em que a forma tradicional de ensino desenvolvida por aulas e provas, tende a transformar, de certa forma, o aluno em um ente passivo, o que poderia não ser adequado para o futuro profissional do estudante que necessita de prática e pensamento crítico. Já no método PBL o aluno se torna um ente ativo na aquisição do seu conhecimento e o novo passo se desenvolve a partir do foco na resolução de problemas pelos alunos por meio da integração dos seus conhecimentos teóricos e práticos. Os alunos são instigados a observar problemas de pacientes que podem ser reais, analisar dados tirados de exames, artigos científicos ou outros para buscar uma solução de forma conjunta com os outros membros da equipe, transformando o estudante em protagonista do seu aprendizado, pois ele terá que buscar meios, formas e materiais que o ajudem a compreender e resolver o problema que foi exposto e proposto pela equipe docente.

No método tradicional do ABP a composição da equipe de trabalho ou estudo é feita conforme a Figura 10. Como a metodologia é aplicada a um grupo, cada membro possui um função. Inicialmente é realizado um brainstorming a fim de debater quais as ideias de cada membro do grupo sobre qual a visão geral do problema, conhecimentos que já possuem sobre o tema, deficiências encontradas, qual abordagem devem utilizar e passos para as próximas etapas. Ao fim de todo o trabalho, os grupos apresentam a solução que encontraram para os docentes e a turma. A última etapa desse método é a realização de uma avaliação geral de todos os envolvidos. Após todas essas etapas, é realizada uma avaliação 360° em que todos avaliam todos do grupo (tutor e estudantes), inclusive a si mesmos, essa avaliação não tem o objetivo de criar desavenças, mas sim mostrar as fraquezas e forças do trabalho desenvolvido e com isso servir de aprendizado para a melhoria das próximas atividades.

Apesar de o método ABP parecer um método de ensino com maior eficácia que o tradicional, considerando que o objetivo final é um bom aprendizado do aluno, em que ele compreenda o problema que foi exposto e consiga crescer com mais autonomia em sua área, o método ABP

Figura 10 – Descrição dos papéis dos participantes do grupo tutorial.

<b>Estudante coordenador</b>	<b>Estudante secretário</b>	<b>Membros do grupo</b>	<b>Tutor</b>
Liderar o grupo tutorial	Registrar pontos relevantes apontados pelo grupo	Acompanhar todas as etapas do processo	Estimular a participação do grupo
Encorajar a participação de todos	Ajudar o grupo a ordenar seu raciocínio	Participar das discussões	Auxiliar o coordenador na dinâmica do grupo
Manter a dinâmica do grupo tutorial	Participar das discussões	Ouvir e respeitar a opinião dos colegas	Verificar a relevância dos pontos anotados
Controlar o tempo	Registrar as fontes de pesquisa utilizadas pelo grupo	Fazer questionamentos	Prevenir o desvio do foco da discussão
Assegurar que o secretário possa anotar adequadamente os pontos de vista do grupo		Procurar alcançar os objetivos de aprendizagem	Assegurar que o grupo atinja os objetivos de aprendizagem
			Verificar o entendimento do grupo sobre as questões discutidas

Fonte: (BORGES et al., 2014)

tem que ser bem pensado antes de ser aplicado em alguma universidade, curso ou disciplina, isso porque ele necessita de recursos humanos e materiais adequados para sua aplicação, como ter disponível material de pesquisa de fácil acesso para os estudantes, assim como a capacitação das pessoas envolvidas, para que o objetivo seja alcançado da melhor forma. Outro desafio está no método de avaliação utilizado pelo docente para verificar o conhecimento do discente, porque a avaliação do aluno não se faz apenas por meio de uma prova, é preciso analisar todo o conjunto, comprometimento e avanço do discente nas etapas do trabalho e isso pode ser estranho inicialmente para o profissional que está acostumado com o padrão tradicional de avaliação, porque agora também estão sendo analisados conteúdos subjetivos do aprendizado.

O objetivo desse trabalho é aplicar um modelo parecido com o PBL no ensino de neurociências, no sentido de instigar o aluno a buscar autonomia no seu aprendizado, utilizando-se de alguns estudos atuais e tecnologias, mas com uma certa mudança no método, pois a sua utilização será realizada sem a necessidade de um grupo de estudos como é o caso do PBL tradicional. Seria uma forma de incentivar o ensino e estudo neuroanatômico e neurofisiológico de forma autônoma e de certa forma guiada por cadernos que contenham as instruções do que deve ser feito ou conhecimento que se deseja adquirir.

## 2.8 OPTOGENÉTICA

A membrana celular possui proteínas que são responsáveis por realizar a comunicação entre o meio intracelular e extracelular. Por meio dessas proteínas, íons podem entrar ou sair da célula como resposta a estímulos físicos ou químicos que façam a proteína mudar sua conformação, contribuindo ou dificultando o fluxo iônico.

A optogenética é uma técnica multidisciplinar que une conhecimentos de óptica, genética e bioengenharia de forma a tentar ampliar os conhecimentos de métodos para a detecção e estudo no campo neurocientífico, entre outros, por meio de proteínas como as opsinas ou rodopsinas que interagem com a luz de diferentes comprimentos de onda, inibindo ou estimulando o fluxo de íons pela membrana, podendo gerar até mesmo movimentos por fototaxias em cílios, tal qual acontece em organismos como zoósporos.

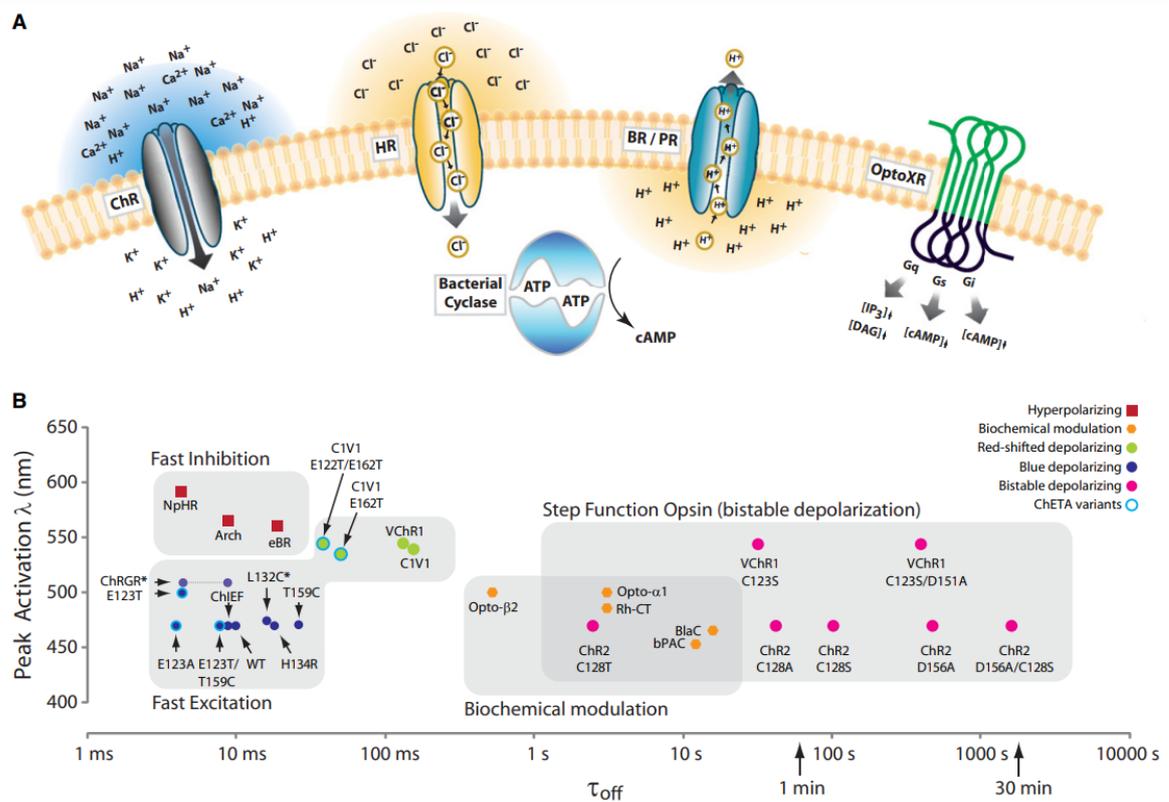
Dependendo de qual rodopsina é utilizada, se Channelrhodopsin (ChR), Halorhodopsins (HR), Bacteriorhodopsin ou proteorhodopsin (BR/PR) ou Rhodopsin-GPCR (G protein-coupled receptor) (OptoXR), é possível facilitar a movimentação de diferentes tipos de íons pela membrana, conforme observado na Figura 11. A ChR responde a luz azul facilitando a excitação celular com influxo de  $\text{Na}^+$ , a HR facilita o influxo de  $\text{Cl}^-$  na membrana, já a OptoXR responde a luz verde.

Os fotorreceptores são moléculas capazes de detectar a luz, sendo as rodopsinas um tipo dessas proteínas sensíveis a luz. Elas são encontradas em três domínios de seres vivos: "Archaea, Bacteria e Eukarya". No corpo humano, a retina é um dos locais que possui rodopsina que é responsável por detectar a luz e participar da transdução do feixe de luz em sinal elétrico que será conduzido pelo nervo óptico até o cérebro.

A inibição e excitabilidade de um neurônio por meio do potencial de membrana pode ser feita por opsinas. As opsinas podem ser usadas tanto para excitar quanto para inibir a ação de um neurônio alterando o fluxo dos íons em sua membrana celular e fazendo com que ela despolarize ou hiperpolarize. Como já citado anteriormente, no período refratário absoluto não é possível gerar outro potencial de ação, independente da intensidade do estímulo. Se for possível deixar a membrana nesse período, é possível inibir a atuação de um neurônio em um determinado período de tempo, já que ele não vai gerar outro potencial de ação e, com isso, não vai transmitir a informação naquele instante.

Na técnica de optogenética podem ser usados vírus para gerar um alto nível de cópias dos genes de opsinas. Observe Figura 12. O artigo de (YIZHAR et al., 2011) é uma boa leitura sobre

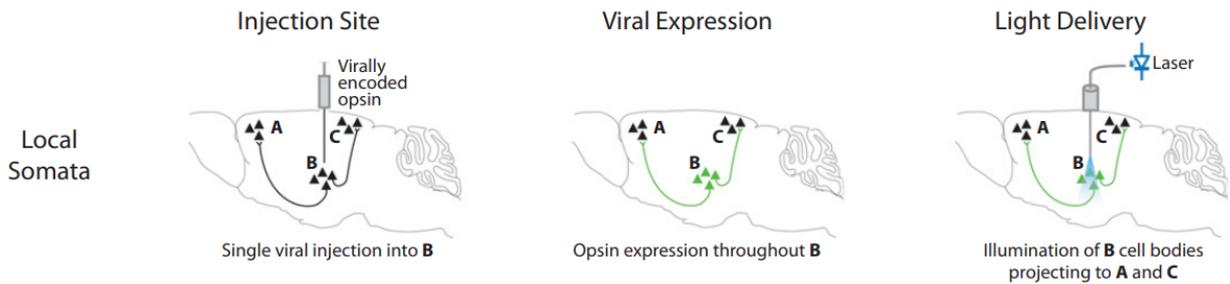
Figura 11 – Diferentes tipos de rodopsinas (ChR, HR, BR/PR, OptoXR) permitindo fluxo de íons na membrana de acordo com cada rodopsina e comprimento da onda luminosa que cada rodopsina responde gerando inibição ou excitação. A rodopsina ChR é excitada por luz azul e permite influxo de Na<sup>+</sup> pela membrana. A rodopsina HR permite o influxo de Cl<sup>-</sup> pela membrana. A rodopsina BR/PR permite efluxo de H<sup>+</sup> pela membrana.



o tema e cita diversos meios de registro que devem ser realizados para comparar os resultados obtidos por optogenética e os obtidos nas gravações de controle, além de cuidados como o aquecimento da região cerebral observada pela presença da fonte de luz que incidirá para estimular as opsinas, tudo isso deve ser registrado de tal forma que o aumento de temperatura na região não venha a ser um empecilho para o experimento ou gerar erros de interpretação dos resultados.

Uma das vantagens de utilizar técnicas optogenéticas em vez das técnicas atuais com microeletrodos metálicos para detecção de sinais em neurônios é que os eletrodos metálicos, como os de tungstênio tendem a gerar um pouco de ruído quando é utilizado estímulo elétrico no neurônio, logo, um estímulo por luz tenderia a minimizar esse tipo de ruído, porém cada técnica deve ser estudada cuidadosamente antes de ser escolhida pelo pesquisador, para que ele tenha ciência de quais as vantagens e desvantagens de cada uma e escolha a que melhor se aplique ao que ele se propõe a investigar. O instituto Allen fez uso da optogenética em alguns de seus experimentos para detecção de interneurônios putativos.

Figura 12 – Injeção de vírus com opsina na região-alvo e dispositivo luminoso iluminando a área com a opsina



Fonte: Adaptado de (YIZHAR et al., 2011)

## 2.9 APPLICATION PROGRAMMING INTERFACE (API)

*Application Programming Interface (API)* vem do inglês, o que em português equivale a Interface de Programação de Aplicativo. São utilizadas por diversas empresas como forma de facilitar a interação e integração entre sistemas, em que terceiros (sistemas ou pessoas) podem acessar recursos e funcionalidades do sistema original sem a necessidade de entendê-lo por completo ou utilizá-lo totalmente, mas apenas as funcionalidades que se deseja. É como uma forma de acessar um banco de dados que está cheio de dados e informações que poderiam ser úteis, mas se não fazem parte do foco de estudo que o usuário deseja pesquisar, só demandam mais tempo de pesquisa e provocam um certo atraso no andamento do trabalho até que o dado que se deseja seja encontrado e extraído para a possível análise (HAWRYLYCZ et al., 2014).

Essa interface permite que diferentes desenvolvedores possam criar aplicativos baseados nas funcionalidades do sistema original do API e possuam a garantia de que o aplicativo criado irá interagir de maneira adequada com o sistema de origem do API. Uma analogia para API seria como um garçom de restaurante. Quando se deseja um prato, faz-se um pedido ao garçom que entra e solicita o prato à cozinha. O cliente não acessa a cozinha, mas sim o garçom que serve como intermediário entre a cozinha e o cliente, fornecendo ao cliente o que foi solicitado.

O *Allen* disponibilizou um caderno ensinando como acessar a API. Esse acesso pode ser feito pelo Google Colab que permite programar em *Python* sem a necessidade do usuário instalar nada em seu computador, pois todo o acesso é realizado em uma máquina virtual do Google, sendo possível acessar a API sem que os dados sejam baixados no computador físico do usuário.

Ao acessar a API por meio de um interpretador de *Python* como o Google Colab, seguindo

o caderno fornecido pelo instituto Allen, pode-se encontrar os acrônimos das áreas do cérebro que foram mapeadas, realizar pesquisa pelo acrônimo, pelo número correspondente àquela área, descobrir quem é a área “mãe” a que a área pesquisada pertence e até mesmo verificar se existe relação entre duas áreas.

O uso de dados públicos no estudo do sistema nervoso permite ampliar as fronteiras do entendimento e pesquisa desse importante sistema para pessoas em diferentes locais do planeta, além de permitir o acesso a dados que instituições e cientistas com menos recursos, tanto laboratoriais quanto humanos, não poderiam usufruir devido a sua estrutura limitada. Iniciativas como a do Instituto Allen que disponibiliza um atlas 3D do cérebro de camundongos, além de dados sobre expressão gênica (JONES; OVERLY; SUNKIN, 2009), tendem a acelerar a exploração e interpretação dos dados, dispendo de uma melhor aplicação dos recursos que foram empregados no projeto inicial e um maior retorno para a comunidade científica e acadêmica (KANDEL et al., 2013).

A utilidade de um atlas do sistema nervoso na pesquisa científica e na atividade cirúrgica está na capacidade de facilitar o estudo e acesso a determinadas estruturas e funções cerebrais. No caso de uma cirurgia é possível mapear a área a ser operada de forma mais precisa, buscando com isso minimizar os riscos e traumas causados pela exploração de regiões vizinhas que não eram o alvo daquele procedimento. Com base no atlas é possível ter uma referência e seguir por meio dela para conseguir acessar as áreas do cérebro do indivíduo. Ter esse mapa em 3D, como o Atlas do camundongo elaborado pelo Instituto Allen, e não em 2D, que é o tradicional, além do fato de poder ser acessado virtualmente e não só fisicamente como é o caso do material impresso, permite uma melhor visualização estrutural e de profundidade, que aumenta a capacidade de observação e estudo, onde é possível fazer conexões e relações entre diferentes áreas cerebrais que venham a ser importantes para a pesquisa.

O *Colab* ou *colaboratory* é uma ferramenta do Google que permite programar em *Python* sem a necessidade de baixar nenhum programa ou *Integrated Development Environment (IDE)* (GOOGLE, 2024) no computador físico. Existe a versão paga e a versão gratuita dessa plataforma, mas a versão gratuita é suficiente para o fim a que este trabalho se propõe, pois a capacidade de memória disponível é suficiente, não necessita de instalação, permite acesso através do navegador web, compartilhamento do caderno e é acessível para qualquer público, seja estudante, cientista de dados ou autodidata que deseja programar sozinho. Optou-se por utilizar o *Colab* pela facilidade de acesso e manuseio para fins educacionais e até mesmo pessoais, por causa de sua gratuidade, facilidade de acesso, por não necessitar da instalação de

programas na máquina do usuário para acessar e rodar os dados.

O Instituto Allen disponibilizou uma página em seu site com exemplos de como acessar seus dados e visualizar o cérebro do camundongo por qualquer plataforma que trabalhe com *Python*. Os dados da base do Allen podem ser acessados por qualquer interpretador de *Python* como o Google Colab e como até o presente momento não há uma interface web para acesso desses dados, o método de acessá-los é pelo AllenSDK (*Software Development Kit*) ou por solicitações feitas na API do projeto, sendo que esse último caso só é aconselhável quando o acesso via cadernos como o Google Colab não estejam acessíveis. A forma utilizada para interagir com os dados se faz por meio do objeto **EcephyProjectCache** do AllenSDK e também uma das primeiras etapas que deve ser feita.

## 2.10 INSTITUTO ALLEN

Por volta da metade do século XX foi descoberta a estrutura tridimensional da molécula de DNA pelos cientistas James D. Watson (o mesmo citado anteriormente, que participou das reuniões iniciais sobre o desenvolvimento do *Allen Institute for Brain Science*) e Francis Crick, que lhes rendeu o Prêmio Nobel de Medicina. Desde então e até o início do século XXI, o estudo do gene se tornou o foco, porém, como no início deste século o mapeamento do genoma estava bem desenvolvido, o foco passou a ser o estudo de neurociências e da mente (JONES; OVERLY; SUNKIN, 2009; KANDEL et al., 2014; KANDEL et al., 2013).

O Instituto Allen de Ciências do Cérebro (*Allen Institute for Brain Science*) em Seattle, Washington, EUA, foi o responsável pelo desenvolvimento do Atlas Interativo do Allen. Ele foi desenvolvido inicialmente por investimentos do cofundador da *Microsoft*, Paul G. Allen, que juntamente com a colaboração e trabalho de diversos pesquisadores e cientistas como Allan Jones conseguiram construir diferentes plataformas sobre o estudo do cérebro de animais, como camundongos e até mesmo de humanos em diversos níveis de resolução e desenvolvimento.

Para o caso de camundongos, existe um mapa 3D e diversos datasets com dados sobre os experimentos, as respostas obtidas e os meios de acessar esses dados, o que torna esse trabalho acessível não só para a comunidade científica, mas para a sociedade em geral. O mapeamento do cérebro de camundongos permitiu a navegação de forma interativa e virtual de regiões do cérebro em qualquer lugar do mundo, desde que se tenha um dispositivo como um computador que consiga acessar os dados.

Esse tipo de iniciativa, que compartilha seus dados e conhecimentos com os demais, tam-

bém chamada de ciência aberta, facilita o desenvolvimento das ciências, além de trazer um modo mais rápido e integrado de avanço nas pesquisas por causa da colaboração existente entre os envolvidos no projeto e outros que podem explorar os dados de forma autônoma. Tendo em vista a grande capacidade do cérebro e sua enorme quantidade de células e interconexões, quanto mais pessoas focadas e interessadas no estudo desse órgão, mais descobertas podem ser alcançadas. Paul G. Allen queria expandir os limites da capacidade humana nos estudos da ciência.

A ideia da criação do *Allen Institute* se iniciou por volta do ano 2001, quando os estudos sobre a decodificação do genoma humano e do camundongo estavam quase chegando ao fim, agora o passo era descobrir como esses genes eram expressos no cérebro e com isso descobrir quais as suas funções genômicas e cerebrais. A ideia inicial do ABA era fornecer aos pesquisadores uma ferramenta de fácil utilização e aplicação por meio do trabalho conjunto de cientistas de diversas áreas. Um dos roedores utilizado na pesquisa do mapeamento genético no cérebro foi o camundongo C57BL/6J. Animal bastante utilizado em pesquisas científicas e de acordo com a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) (UFSM, 2022), uma de suas aplicações é justamente em estudo de questões genéticas, já que seu genoma possui uma similaridade com o genoma humano entre 70 e 90%.

Uma facilidade que o projeto encontrou na época foi o fato da existência de tecnologias capazes de mapear o cérebro de forma não invasiva como a imagem por Ressonância Magnética (RM) ou do inglês *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*, além do crescente avanço na área de ciência de dados facilitar o estudo e processamento de um grande volume de dados obtidos nas pesquisas sobre o cérebro (KANDEL et al., 2013; JONES; OVERLY; SUNKIN, 2009).

Como o projeto genômico já estava avançado, idealizou-se a criação de um atlas que pudesse mostrar a expressão desses genes no cérebro do camundongo adulto. A meta final era que fosse apresentado um total de 20.000 transcrições gênicas, mas no início do trabalho do Allen, o instituto trabalhou apenas com dez por cento desse valor, ou seja, 2.000 genes que foram analisados pelos cientistas Gregor Eichele e Christina Thaller no *Baylor College of Medicine*, Texas USA usando o método *In Situ Hybridization (ISH)* para mapear a expressão gênica (JONES; OVERLY; SUNKIN, 2009).

A técnica de hibridização in situ, o ISH é um método de estudo da biologia molecular usada para localizar e detectar sequências específicas de ácidos nucleicos (*Deoxyribonucleic acid (DNA)* ou *Ribonucleic acid (RNA)*) em células ou tecidos. Com ela é possível determinar a identificação e visualização de onde um determinado gene específico está ativo ou presente

na amostra biológica.

Existem diferentes tipos de ISH:

ISH de RNA: Permite localizar e identificar sequências específicas de RNA em células ou tecidos. Ajuda a entender onde certos genes estão sendo expressos.

ISH de DNA: Utilizado para detectar e mapear sequências específicas de DNA.

Essa técnica geralmente envolve a utilização de uma sonda de ácido nucleico marcada (geralmente com corantes fluorescentes ou radioisótopos) que se liga complementarmente à sequência alvo no material biológico. Posteriormente, é possível visualizar a localização da sonda e, por extensão, a presença ou atividade do gene específico sob investigação.

O ISH é utilizado em pesquisas científicas, diagnósticos médicos e estudos genéticos, permitindo a compreensão detalhada da expressão gênica e a localização de sequências de interesse no contexto de células e tecidos. Foi o método escolhido para fazer o mapeamento e elaboração do atlas genômico de camundongos do *Allen Institute* e em 2006 todo o conjunto de dados sobre o genoma foi concluído e disponibilizado para o público.

As sondas utilizadas para o ISH foram desenvolvidas para produzir uma máxima detecção de sinal. Em alguns casos as sondas utilizadas hibridizavam mais de um gene por vez, realizando uma hibridização cruzada que poderia gerar um falso positivo e análise incorreta do dado da área estudada, essa informação chegou ao conhecimento do Allen tanto pela equipe de desenvolvimento quanto por feedback de usuários que coletaram os dados na plataforma e informaram através do site ou em conferências. Isso mostra um dos benefícios que o Instituto encontrou ao disponibilizar os seus dados publicamente.

Com a descoberta desse problema, novas sondas foram projetadas para reverter essa situação e novas coletas de ISH foram realizadas nas amostras para substituir os dados que antes haviam apresentado problema. O *Allen* optou por disponibilizar as informações de cada sonda no ABA<sup>1</sup> para que os usuários pudessem verificar e julgar a especificidade da sonda por si mesmos por meio das anotações genéticas que estavam disponíveis.

---

<sup>1</sup> Site do ABA (INSTITUTE, 2024a)

### 3 METODOLOGIA

Será realizado um levantamento das mais recentes alternativas para o estudo da anatomia e função do sistema nervoso, com um enfoque direcionado para conjuntos de dados públicos. O principal recurso a ser empregado neste estudo, abrangendo tanto a análise da forma quanto da função, consistirá nas ferramentas públicas fornecidas pelo Instituto Allen. Isso incluirá não apenas os atlas interativos, mas também as bases de dados que documentam a atividade eletrofisiológica em várias regiões do sistema nervoso. No que diz respeito à atividade eletrofisiológica, serão utilizadas informações relativas às atividades unitárias detectadas nos experimentos.

#### 3.1 COMPORTAMENTO VISUAL COM NEUROPIXEL: VISÃO GERAL SOBRE OS EXPERIMENTOS EM CAMUNDONGOS REALIZADOS PELO *ALLEN BRAIN OBSERVATORY*

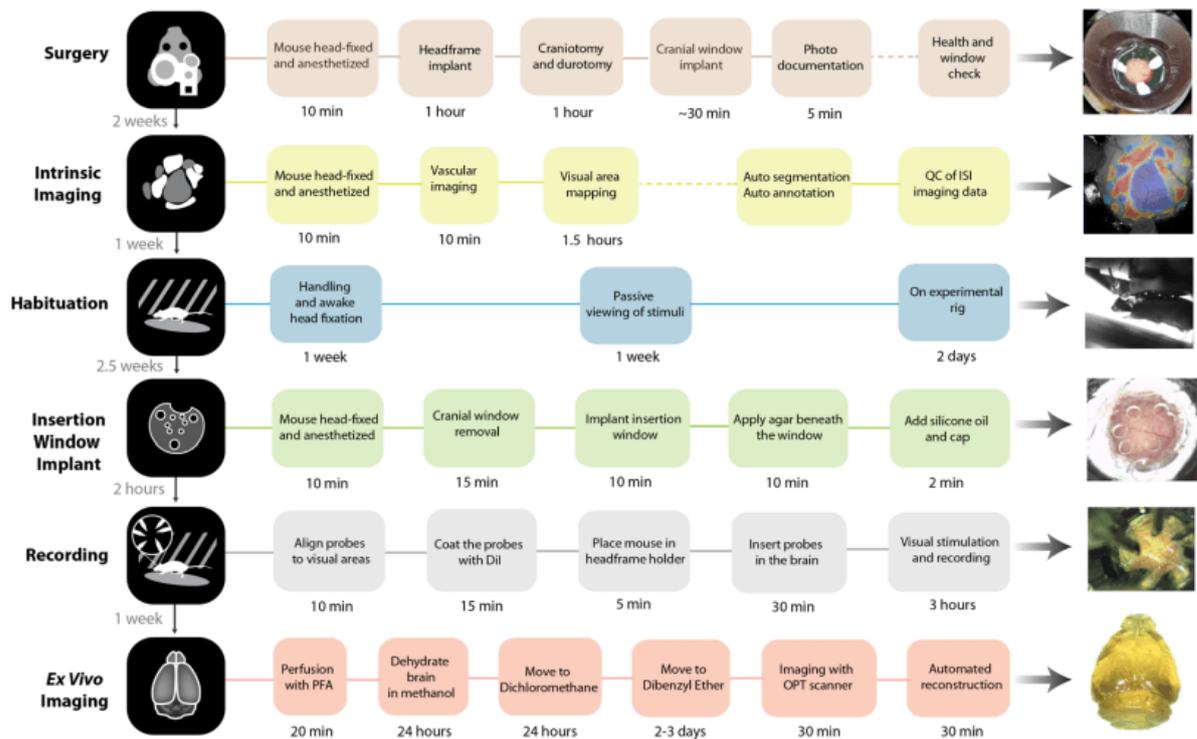
Os experimentos foram realizados com três diferentes genótipos de camundongos: camundongos Sst-IRES-Cre;Ai32 (Sst), camundongos Vip-IRES-Cre;Ai32 (Vip), e camundongos C57BL6J (wt), sendo esses últimos camundongos selvagens. A gravação em camundongos Sst e Vip permitiu indentificar interneurônios putativos com o uso de luz, por causa do cruzamento do Sst-IRES-Cre com o Ai32, bem como do Vip-IRES-Cre com o Ai32, isso porque o Ai32 expressava a ChR2, uma proteína que pode ser ativada por luz, o método de optogenética que foi explicado na seção 2.8.

Os experimentos foram realizados em seis etapas<sup>1</sup>, conforme exposto na Figura 13, em que a primeira fase é cirurgia do animal, onde é realizada a craniotomia para ter acesso ao cérebro do camundongo. A segunda etapa era o registro da imagem intrínseca da estrutura para detectar a região cortical visual do animal, sem que nenhum estímulo fosse apresentado ao animal, servia para registrar os pontos iniciais do estudo, como fixação da cabeça do animal na estrutura que seria usada para a aquisição dos dados. A terceira etapa era o treinamento do comportamento do animal para a etapa de gravação do estímulo visual. A quarta etapa refere-se a inserção de uma janela de vidro na região cerebral em que foi feita a craniotomia para que houvesse isolamento e proteção da área, essa janela era composta por orifícios já com as posições das estruturas cerebrais que queriam analisar. Esses orifícios serviam como guias para

<sup>1</sup> Whitepaper técnico Neuropixels Visual Coding. (INSTITUTE, 2019)

as probes que seriam inseridas no dia da gravação eletrofisiológica. A quinta etapa equivale ao dia da gravação e aquisição dos dados que era realizada em dois dias consecutivos e a sexta e última etapa era a remoção do cérebro do camundongo para análise do tecido, mapeamento, secção e formação do mapa tridimensional, além do uso da técnica de optogenética.

Figura 13 – As seis etapas em que o camundongo era submetido nos experimentos de comportamento visual com sondas Neuropixels e o tempo médio de cada sessão.

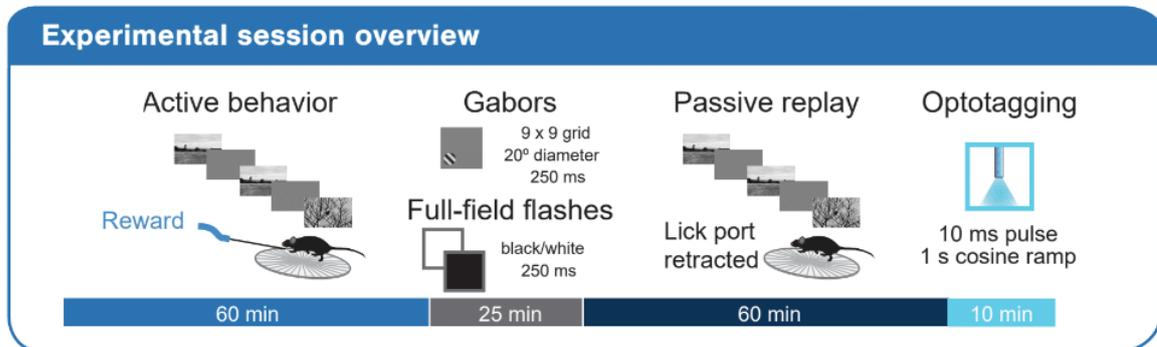


Fonte: Instituto Allen

### 3.1.1 Tarefa de detecção de mudança de imagem

Os camundongos passaram por seis etapas para o experimento, uma delas era o treinamento para aprenderem a detectar mudanças de imagem e após essa qualificação, seguiram para a equipe de Neuropixels, conforme exposto na Figura 14. Eles foram privados de água para que a água fosse utilizada como recompensa durante os treinamentos. Primeiro foram treinados com uma série contínua de estímulos em que identificavam mudanças de orientação com imagens estáticas, depois imagens piscantes e por fim imagens de cenas naturais. A cada resposta correta de mudança de imagem, os animais recebiam água como recompensa por seu trabalho na identificação da mudança do quadro. Cada sessão é composta por 8 imagens (grupo G ou grupo H de imagens), o que permite uma transição de 64 quadros possíveis. Cada sessão de

Figura 14 – Visão geral da sessão experimental de treinamento realizada pelo *Allen Brain Observatory* em camundongos do dataset utilizado nesse trabalho. Primeira parte equivale a etapa de treinamento para detecção de mudança de imagens, após estarem aptos eram encaminhadas para a segunda parte em que a equipe de Neuropixels realizariam os experimentos eletrofisiológicos e de comportamento. A última etapa é referente ao optotagging, em que uma luz incidia na janela craniana do animal de forma a ver como isso afetaria a atividade do animal nos mesmos testes experimentais.



Fonte: Instituto Allen

treinamento terminava após 60 minutos.

Criou-se dois tipos de tentativas para treinar o comportamento dos animais: a tentativa *GO* e a tentativa *CATCH*. Na tentativa *GO* a imagem mudava e o animal deveria lambe o bico para demonstrar que detectou a mudança da imagem e receber água como recompensa pela resposta correta que era classificada como acerto. O erro era determinado no caso em que o animal lambia sem que houvesse mudança na imagem. Já a tentativa *CATCH* não apresentava mudança da imagem, então o animal não deveria lambe o bico de lambida. As lambidas feitas na tentativa *CATCH* eram classificadas como alarme falso, já que não houve mudança na imagem do estímulo ou rejeição correta quando não havia lambida. As respostas disponíveis eram:

*GO: HIT* quando lambida acontecia dentro da janela de tempo de 150 a 750 ms após a mudança da imagem e subsequente recebimento de recompensa pela resposta correta. *MISS* falta de resposta dentro da janela de tempo de 150 a 750 ms após a apresentação da imagem e a recompensa não era entregue.

*CATCH: FALSE ALARM* quando lambida acontecia dentro da janela após a simulação de mudança. *CORRECT REJECTION* falta de resposta dentro da janela de tempo.

Cada imagem tinha um tempo de tela igual (250 ms por estímulo), assim como o tempo em que não eram apresentadas imagens (500 ms), tudo isso para padronizar os estudos ao máximo. No período em que não eram apresentadas imagens de estímulos, o animal via uma tela cinza durante o intervalo de 500 ms, como já citado inicialmente. Percebe-se que a soma dos tempos em que a imagem aparece e desaparece equivale a 750 ms, esse era o intervalo

de tempo que o animal possuía para reagir a mudança da imagem, lambe o dispositivo para receber água como recompensa e sua resposta ser classificada como correta. Lambidas fora desse intervalo, onde não havia mudança de imagem eram classificadas como falsas/incorretas.

### 3.1.2 Gravações com neuropixels

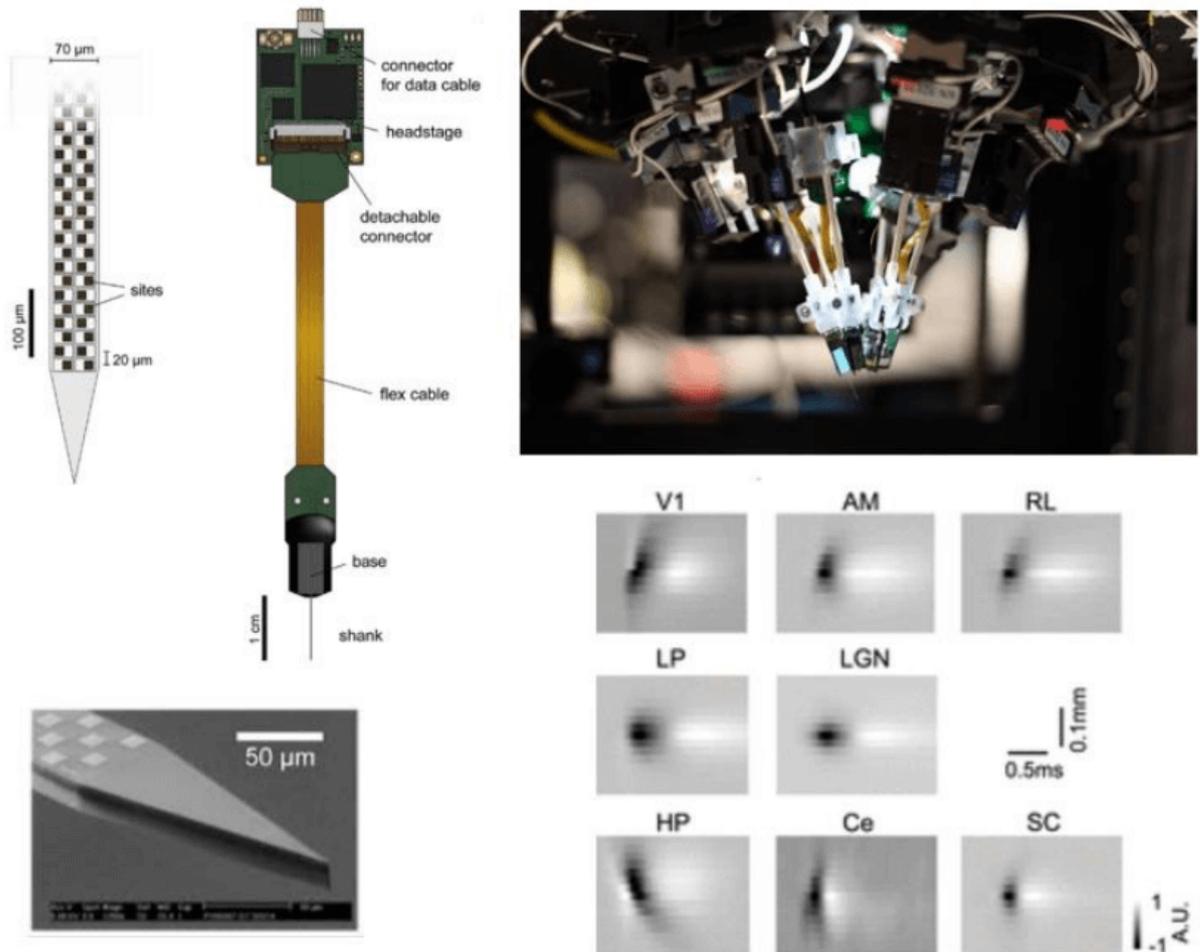
O conjunto de dados do *Allen* utilizou uma probe Neuropixel 1.0 na realização dos experimentos. A Figura 15 mostra a sonda usada no experimento. Essas probes ou sondas foram inseridas no córtex do camundongo a uma profundidade de 3-3.5 mm, resultando em 300-350 locais (sites) de gravação por sonda. Esse trabalho era feito por até dois dias para gravações consecutivas e o número de sondas inseridas poderia chegar a seis para cada animal.

Cada sonda podia ser controlada por um manipulador independente ao longo de 3 eixos, o que permitia maior movimentação e posicionamento da sonda. A sonda era inserida em uma janela feita no crânio do animal que permitia o acesso a área cortical de interesse no estudo. Essa janela tinha em média 5mm de diâmetro. No primeiro dia era feita a craniotomia e colocação da janela de vidro no local para proteger do meio externo e facilitar o acesso no dia seguinte em que seria colocada uma janela de plástico própria para a gravação dos sinais eletrofisiológicos do comportamento animal. Esse intervalo de dias era necessário para verificar o comportamento do animal e se não houve nenhum problema pós-cirurgia como uma epilepsia, já que se trata de um processo invasivo. A inserção da sonda era realizada lentamente de tal forma a não danificar demais a estrutura cerebral do animal, o que poderia causar um processo inflamatório maior que atrapalharia a coleta e análise dos dados. Conforme exposto na seção 2.1 os estudos de Brodmann demonstraram que o cérebro possui regiões com citoarquitecturas diferentes, devido a isso a densidade de cada área é diferente, o que faz com as formas de ondas para uma unidade específica se estenda por muitos canais, devido à densidade de locais de gravação dessas sondas.

### 3.1.3 Estrutura dos dados

A tabela do dataset com os dados possui 21 colunas, cada uma correspondendo a uma característica do experimento. Ao todo foram utilizados 81 animais, porém os dados que estão no SDK não possuem 27 camundongos que foram omitidos por padrão por apresentarem anomalia nos dados. O número total de camundongos pode ser obtido analisando os valores únicos

Figura 15 – Probe Neuropixel utilizada nos experimentos. Lado esquerdo com três ampliações diferentes, mostrando a posição dos locais (sites) de gravação, visualização ampliada do shank e visão geral da probe. Lado superior direito com um manipulador montado com sondas Neuropixel. Cada sonda está ligada a um manipulador independente de três eixos e é angulada para caber dentro de uma janela de gravação de cerca de 5 mm. Na parte inferior à direita, são apresentadas formas de onda 2D de 8 unidades gravadas em áreas cerebrais corticais e subcorticiais usando sondas Neuropixels. Em cada gráfico, o eixo horizontal representa o tempo, enquanto o eixo vertical representa o local de gravação. A variação de cor indica a voltagem em unidades arbitrárias (os gráficos foram normalizados para comparação). Algumas das áreas citadas são: AM, RL, LP, Ce, SC



Fonte: Instituto Allen

da coluna `mouse_id` que equivale ao código de identificação do camundongo do experimento. A seguir estão as colunas presentes no *dataset* do comportamento visual. Ao programar em *Python* será possível acessar os dados de cada coluna de acordo com o seu nome, conforme será mostrado para algumas colunas na seção 4 em que os resultados dos cadernos gerados serão apresentados.

**behavior\_session\_id**: código da identidade do comportamento

**date\_of\_acquisition**: data da aquisição dos dados, realização do experimento.

**equipment\_name**: nome do equipamento que realizou a aquisição dos dados. Exemplo:

NP.0

**session\_type:** tipo da sessão

**mouse\_id:** identidade do camundongo usado na sessão do experimento

**genotype:** genótipo do camundongo da sessão do experimento

**sex:** sexo do camundongo da sessão do experimento

**project\_code:** código do projeto

**age\_in\_days:** idade do camundongo no dia da sessão do experimento

**unit\_count:** quantidade de neurônios detectados na sessão do experimento

**probe\_count:** quantidade de probes/sondas utilizadas na sessão do experimento

**channel\_count:** quantidade de canais na sessão do experimento

**structure\_acronyms:** acrônimos das áreas cerebrais encontradas na sessão do experimento

**image\_set:** grupo de imagens a que o animal foi apresentado. Se as imagens eram do grupo G ou do grupo H

**prior\_exposures\_to\_image\_set:**

**session\_number:** qual foi o dia da gravação da sessão do experimento, se foi realizada no 1º ou no 2º dia de gravação

**experience\_level:** se o animal estava familiarizado ou não com o grupo de imagens apresentado na sessão do experimento. Podendo retornar familiar ou novidade (familiar ou novel)

**prior\_exposures\_to\_omissions:**

**file\_id:** identificação do arquivo

**abnormal\_histology:** sessão de animal que apresentou histologia anormal

**abnormal\_activity:** dado em que se observou potencial atividade epiléptica durante a sessão de gravação

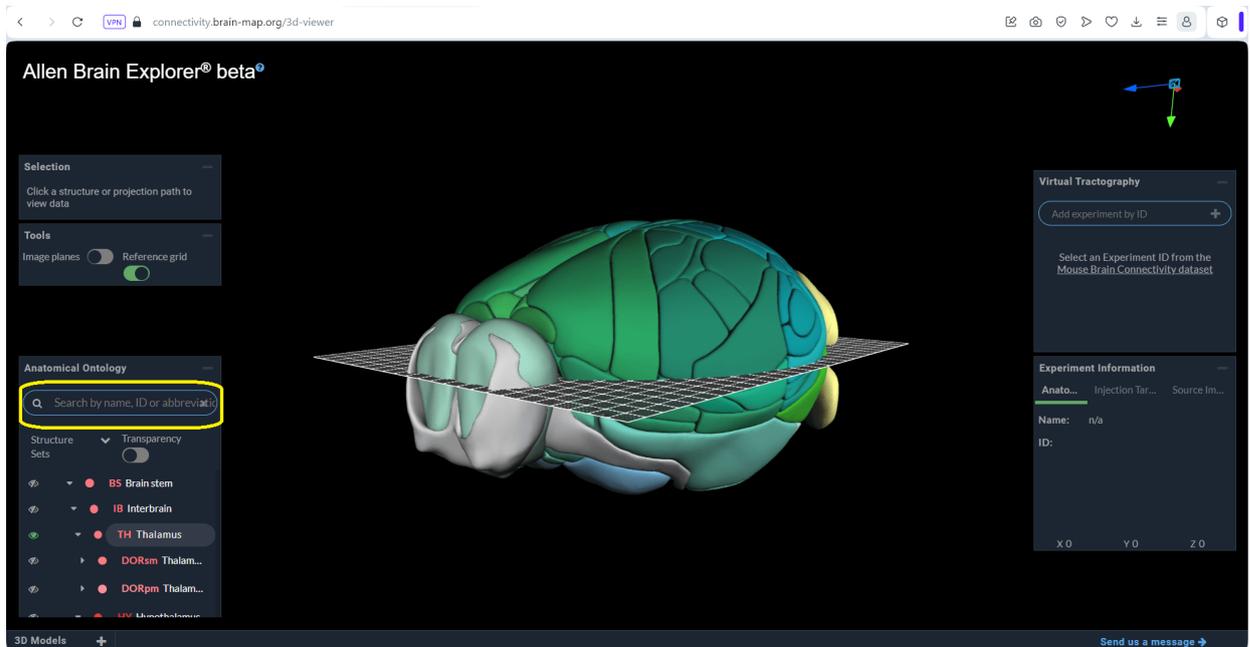
### 3.2 ALLEN BRAIN EXPLORER

O *Allen Institute* desenvolveu um site em que é possível visualizar o cérebro do camundongo em 3D, assim como baixar um programa para acessar o mapa em seu computador. Nesse site<sup>2</sup>, conforme destacado no retângulo amarelo na Figura 16 é possível escolher a área ou áreas que se deseja visualizar, além de pesquisar o nome da área pelo seu nome completo ou acrônimo.

<sup>2</sup> Site do Allen Brain Explorer (INSTITUTE, 2024b).

Os acrônimos serão úteis para entender as áreas citadas nos dados que aparecem na coluna de acrônimos (structure\_acronyms) da tabela das sessões dos experimentos.

Figura 16 – Visualização do site do Allen Brain Explorer com destaque para a área em que pode ser feita a pesquisa da região cerebral que se deseja observar. Essa área também permite a visualização dos acrônimos usados pelo Allen para as áreas cerebrais.



Fonte: Instituto Allen

O ABA pode ser acessado pelo site<sup>3</sup> em que é possível encontrar mais ferramentas e atlas disponibilizados pelo instituto.

<sup>3</sup> Site do Allen Brain Reference Atlases: (INSTITUTE, 2024c)

## 4 RESULTADOS

Os cadernos são iniciados com uma parte introdutória que visa explicar resumidamente de maneira simples sobre o que se trata aquele caderno, quais os métodos que serão abordados e alguns conhecimentos básicos sobre conceitos de neurofisiologia, estatística ou outro recurso e conceito que podem aparecer ao longo das questões. Para evitar a repetição de conceitos e gerar uma integração entre os cadernos, alguns conhecimentos já abordados em cadernos anteriores foram omitidos dos cadernos seguintes, mas com a devida citação de que o conteúdo introdutório poderia ser encontrado nos cadernos anteriores.

### 4.1 PRIMEIRO CADERNO: VISÃO GERAL DO ALLENSDK E ACESSO AOS DADOS

O primeiro caderno (C1) apresenta uma visão geral do AllenSDK e o acesso aos dados, além de possuir como índice os seguintes tópicos e subtópicos mostrados abaixo. Por se tratar de um caderno inicial, faz-se necessário apresentar o Instituto Allen e a forma como os experimentos foram realizados para contextualizar o assunto e ambientar o usuário do caderno, além de dar o devido crédito a quem desenvolveu os experimentos e disponibilizou os dados.

- Introdução

  - Usando o AllenSDK para recuperar os dados

    - Instalação do SDK

    - Primeiro acesso aos dados

    - Usando o Google Colab como diretório

    - Usando o Google Drive como diretório

    - Preparando o cache para baixar os arquivos

- Criando Perguntas

A figura 17 se refere a uma parte da seção de introdução desse caderno, em que é falado brevemente sobre o Instituto Allen de onde vieram os dados dos experimentos usados no caderno, além de uma figura disponibilizada pelo Instituto com uma visão geral de como os experimentos foram feitos nos camundongos e o link do *whitepaper* que explica melhor esse trabalho de treinamento, cirurgia e aquisição dos dados eletrofisiológicos do animal, caso o

usuário deseje se aprofundar sobre a realização dos experimentos direto da documentação original. A Figura que aparece na seção introdutória do caderno 1 já foi explicada na seção 3 de metodologia.

Perguntas selecionadas do primeiro caderno:

- *P1: Quantos animais têm idade maior que 100 dias e menor que 120 dias?*
- *P2: Como encontrar todas as gravações de camundongos fêmeas Sst que contêm unidades da área Tálamo (TH)?*

Figura 17 – Introdução do primeiro caderno sobre o AllenSDK (C1).

### Introdução

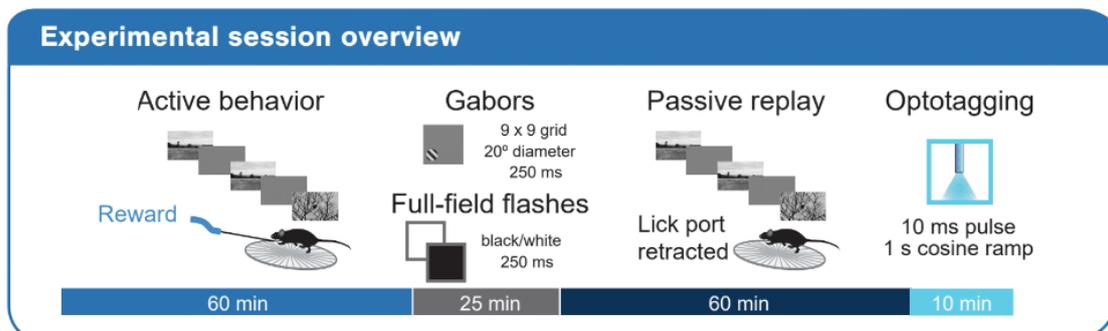
O Allen Institute for Brain Science desenvolveu uma série de experimentos e disponibilizou os dados gratuitamente em seu site como forma de incentivar a ciência aberta (*open science*) e o entendimento do cérebro. No caso do experimento que esse caderno aborda, os dados são referentes a questões sensoriais como a atividade no córtex visual e no tálamo de camundongos.

- Visão geral do allensdk

O allenSDK (Software Development Kit) é uma ferramenta criada pelo instituto para facilitar a programação e acesso aos dados experimentais registrados.

- Descrição do dado

O [whitepaper técnico](#) com a descrição de como os experimentos foram realizados é possível ser acessado no link.



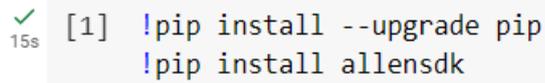
Atualmente, o Allen não dispõe de uma interface web para navegar pelas células e experimentos disponíveis, os dados devem ser recuperados por meio do AllenSDK (Python 3.6+) ou por meio de solicitações enviadas para [api.brain-map.org](http://api.brain-map.org).

Fonte: Elaborado pela autora

Como o ambiente do Google Colaboratory (Colab) utiliza uma máquina virtual do Google, é importante realizar algumas instalações antes de executar o caderno. O Colab trabalha com linguagem *Python*, manter o instalador da plataforma atualizado vai garantir que melhorias no desempenho, correção de bugs e vulnerabilidades, novos recursos e funcionalidades. A instalação do pacote `allensdk` é importante para que seja possível acessar os dados dos experimentos, já que esse pacote foi fornecido pelo Allen Instituto para que por meio da biblioteca AllenSDK os resultados dos experimentos sejam recuperados. Por isso que uma das células de código

executável do caderno é a exposta na Figura 18 que mostra o código para que o caderno consiga atualizar o instalador *Python* no caderno do Google Colab e acessar os experimentos.

Figura 18 – Atualização do instalador *Python* e instalação do pacote `allensdk` disponibilizado pela biblioteca AllenSDK do Allen Instituto for Brain Science fornecidos pelo AllenSDK.



```
✓ 15s [1] !pip install --upgrade pip
      !pip install allensdk
```

Fonte: Elaborado pela autora

A importação de bibliotecas é essencial para o desenvolvimento de software eficiente, permitindo que os desenvolvedores aproveitem o trabalho de outros, ampliem as capacidades da linguagem e se concentrem na resolução de problemas específicos de seus aplicativos, por isso que a Figura 19 mostra o código para importação de bibliotecas úteis para análise de dados, manipulação de diretórios, plotagem de gráficos e funções matemáticas, além da importação da classe **EcephysProjectCache**. Essa classe é parte do AllenSDK e é usada para interagir com o cache do projeto de eletrofisiologia (Ecephys) do *Allen Institute for Brain Science*, que fornece métodos para recuperar dados de eletrofisiologia do *Allen Brain Observatory*.

**import os** importa o módulo OS, que fornece funções para interagir com o sistema operacional, como manipulação de arquivos e diretórios.

**import shutil** importa o módulo `shutil`, que fornece operações de alto nível em arquivos e diretórios, como cópia, exclusão e movimentação de arquivos.

**import numpy as np** importa o pacote `numpy` e o renomeia como `np`, um apelido para não ter que chamar o pacote pelo nome completo que é `numpy`. O `numpy` é uma biblioteca amplamente utilizada em *Python* para trabalhar com funções matemáticas e arrays multidimensionais.

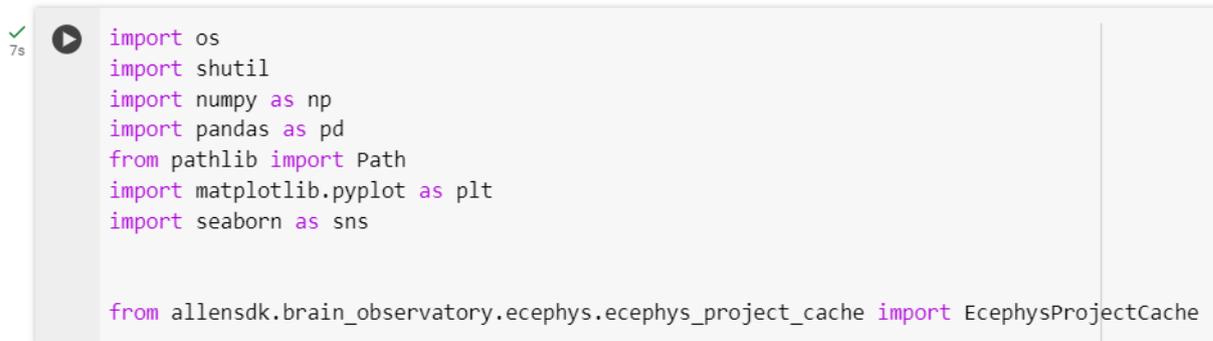
**import pandas as pd** importa o pacote `pandas` e o renomeia como `pd`. O `pandas` é uma biblioteca para manipulação e análise de dados em *Python*, especialmente para dados tabulares e séries temporais.

**from pathlib import Path** importa a classe `Path` do módulo `pathlib`. A classe `Path` é uma maneira moderna de trabalhar com caminhos de arquivos e diretórios em *Python*.

**import matplotlib.pyplot as plt** `Matplotlib` é uma biblioteca para criação de gráficos em *Python*. `pyplot` é um módulo dentro do `Matplotlib` que fornece uma interface semelhante ao `MATLAB` para a criação de gráficos. Por conveniência será importada como `plt`.

`import seaborn as sns` *Seaborn* é uma biblioteca de visualização de dados em *Python* baseada no *Matplotlib*. Ela fornece uma interface de alto nível para criar gráficos estatísticos atraentes e informativos. Por conveniência será importada como `sns`.

Figura 19 – Instalação de pacotes necessários para a execução das ferramentas utilizadas no caderno.



```

import os
import shutil
import numpy as np
import pandas as pd
from pathlib import Path
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns

from allensdk.brain_observatory.ecephys.ecephys_project_cache import EcephysProjectCache

```

Fonte: Elaborado pela autora

Como o acesso aos dados está sendo feito em uma máquina virtual do *Google* por meio do *Google Colaboratory*, os dados experimentais são baixados em um cache que pode ser definido pelo usuário como um diretório no próprio *Colab* sem a necessidade de baixar nada no drive ou computador físico do usuário, porém ao fim do trabalho, quando a máquina do *Google* for desconectada, esse cache será perdido. Isso não quer dizer que o usuário não poderá acessar os dados novamente, mas para isso será necessário executar outra vez os comandos anteriores de instalação do *AllenSDK*, importação de bibliotecas e executar o código novamente. Caso queira baixar no seu aparelho físico é importante verificar se o local do cache tem espaço suficiente para o armazenamento dos dados. O cache foi definido no *Colab* conforme código da Figura 20, em que também é possível verificar o tamanho de cada arquivo, sendo eles divididos em cinco grupos: `ecephys`, `behavior`, `units`, `probes` e `channels`. No caderno C1 foi utilizado o arquivo `ecephys` que corresponde aos dados eletrofisiológicos dos experimentos.

A linha `from allensdk.brain_observatory.behavior.behavior_project:` importa a classe `VisualBehaviorNeuropixelsProjectCache` do módulo `behavior_neuropixels...` do pacote `behavior_project_cache` dentro do pacote `brain_observatory` do conjunto de ferramentas *allensdk*. Esta classe é utilizada para acessar e manipular dados de projeto relacionados ao comportamento neural visual em experimentos com sondas *Neuropixels*.

`output_dir = '/content/allen_caderno1'`: é preciso definir um diretório de saída onde os dados serão armazenados ou carregados. Nesse caso o diretório de saída é definido como `'/content/allen_caderno1'`. O diretório deve ser atualizado para um local válido em seu

sistema operacional, mas da forma que está o código, caso seja utilizado o Colab como o local do armazenamento, esse código vai criar essa pasta chamada `allen_caderno1` no caderno do Colab, caso ela não exista.

**DOWNLOAD\_COMPLETE\_DATASET = False:** essa variável pode ter valores `false` e `true`, quando está declarada como `True`, significa que o dataset será baixado por completo. Caso o usuário não deseje baixar todo o conjunto de dados nesse momento ou deseje utilizar apenas uma parte dele, o ideal é declarar a variável como `False`.

**output\_dir = Path(output\_dir):** para manipular os arquivos e diretórios de forma independente da plataforma é possível usar esse código. Nesse ponto é realizada a conversão da string do diretório de saída em um objeto `Path` da biblioteca `pathlib`.

A linha iniciada por **cache = VisualBehaviorNeuropixelsProjectCache:** cria uma instância da classe `VisualBehaviorNeuropixelsProjectCache`, especificando o diretório de cache como `output_dir`. Isso configura o cache para usar o diretório especificado para armazenar e carregar dados.

A linha iniciada por **cache.load\_manifest('visual-behavior-neuropixels...')**: carrega o manifesto do projeto de comportamento neurovisual especificado pelo arquivo JSON `'visual-behavior-neuropixels_project_manifest_v0.5.0.json'`. O manifesto contém informações sobre os dados disponíveis no projeto, como os IDs dos experimentos, regiões do cérebro, informações comportamentais, entre outros. O cache usará essas informações para gerenciar e acessar os dados relevantes, por isso é importante que o cache seja declarado na mesma pasta que o manifesto, senão o arquivo não poderá ser acessado, porque o manifesto funciona como um guia para o cache.

Figura 20 – Primeiro acesso aos dados com indicação do caminho do diretório onde os arquivos devem ser armazenados e código definindo que não se deve baixar o conjunto de dados por completo.

```

✓ [3] from allensdk.brain_observatory.behavior.behavior_project_cache.\
      behavior_neuropixels_project_cache \
      import VisualBehaviorNeuropixelsProjectCache

      output_dir = '/content/allen_caderno1' # deve ser atualizado para um diretório válido em seu sistema de arquivos
      DOWNLOAD_COMPLETE_DATASET = False
      output_dir = Path(output_dir)
      cache = VisualBehaviorNeuropixelsProjectCache.from_s3_cache(cache_dir=output_dir)
      cache.load_manifest('visual-behavior-neuropixels_project_manifest_v0.5.0.json')

ecephys_sessions.csv: 100%|██████████| 64.4k/64.4k [00:00<00:00, 588kMB/s]
behavior_sessions.csv: 100%|██████████| 562k/562k [00:00<00:00, 2.43MMB/s]
units.csv: 100%|██████████| 134M/134M [00:04<00:00, 27.1MMB/s]
probes.csv: 100%|██████████| 130k/130k [00:00<00:00, 722kMB/s]
channels.csv: 100%|██████████| 27.9M/27.9M [00:01<00:00, 24.4MMB/s]

```

Fonte: Elaborado pela autora

Uma variável precisa ser criada para armazenar os dados que serão baixados do AllenSDK

que ao ser utilizado retorna os dados em forma de tabela, sendo cada linha correspondente a uma sessão e cada coluna a uma característica do experimento. No código da Figura 21 a variável `sessions` está sendo definida e ela armazenará em forma de tabela os valores eletrofisiológicos dos experimentos. Nesse caso, por causa da linha de código `sessions.head()`, ela só apresentará as 5 primeiras sessões. Para a imagem não ficar desproporcional, as demais colunas foram cortadas e a imagem só apresenta as 3 primeiras colunas, sendo que essa tabela tem 21 colunas (características do experimento) e 103 linhas (total de sessões), que podem ser acessadas ao executar o caderno.

`sessions = cache.get_ecephys_sessions_table()` cria uma variável chamada `sessions` que vai armazenar os dados da tabela. Isso chama o método `get_ecephys_sessions_table()` do objeto `cache`, que foi criado anteriormente. Este método retorna uma tabela de sessões (`sessions`) do `cache`, que contém informações sobre todas as sessões disponíveis no conjunto de dados, informações como detalhes de cada sessão, identificador da sessão, data, tipo de experimento, entre outros.

`print('Número total de sessões:' + str(len(sessions)))` esse código vai imprimir o número total de sessões do conjunto de dados. A função `len(sessions)` retorna o número de linhas da tabela de sessões. O resultado é convertido em uma string e unido a mensagem informativa para imprimir na tela.

`sessions.head()` essa linha vai retornar as primeiras linhas da tabela de sessões, o método `head()` do `pandas` retorna por padrão as primeiras cinco linhas dos dados, fornecendo uma visualização rápida dos dados.

Após ter realizado todas as etapas citadas acima, a tabela com as informações das sessões, `sessions`, é gerada e será possível elaborar perguntas com base nos dados dela e filtrar conforme se deseja. A partir desse momento pode-se criar perguntas básicas sobre os dados da tabela `sessions`. As Figuras 22 e 23 mostram duas perguntas iniciais que poderiam e foram respondidas com os arquivos dos experimentos do *Allen*. A primeira pergunta busca saber quantos animais têm idade em um determinado intervalo. Isso pode ser útil caso o pesquisador queira estudar apenas camundongos com uma determinada faixa de idade. É fácil perceber que para o intervalo entre 100 e 120 dias que foi o proposto pela pergunta, obtém-se como resposta quatro sessões. O resultado da pergunta P1 consta na Figura 22, sendo um número de quatro sessões que correspondem a quantidade de sessões que atendem ao intervalo solicitado. Prestando um pouco mais de atenção na imagem é possível ver que mais duas colunas (número do equipamento e tipo de sessão) do total de 21 colunas citadas

Figura 21 – Definição de uma variável `sessions` que vai armazenar uma tabela com todos os valores eletrofisiológicos das sessões e demais características do experimento dispostos em colunas, em que nessa figura só constam os cinco primeiros experimentos de um total de 103 linhas (experimentos) e as três primeiras colunas de 21 colunas.

```

✓ 0s ▶ sessions = cache.get_ecephys_session_table()

print('Número total de sessões: ' + str(len(sessions)))

sessions.head()

```

➔ Número total de sessões: 103

ecephys_session_id	behavior_session_id	date_of_acquisition
1044385384	1044408432	2020-08-19 14:47:08.574000+00:00
1044594870	1044624428	2020-08-20 15:03:56.422000+00:00
1047969464	1048005547	2020-09-02 14:53:14.347000+00:00
1047977240	1048009327	2020-09-02 15:15:03.733000+00:00
1048189115	1048221709	2020-09-03 14:16:57.913000+00:00

5 rows × 21 columns

Fonte: Elaborado pela autora

estão representadas na imagem. Elas não apareceram antes nesse trabalho, porque as imagens precisam ser cortadas por motivos de proporção e clareza das imagens, se isso não fosse feito não daria para enxergar nenhum valor na figura se todas as 21 colunas fossem apresentadas de uma vez em uma folha padrão A4. Porém ao executar o código no caderno, é possível visualizar todas as colunas.

**filtered\_sessions** nessa linha de código está sendo definida uma variável que receberá o resultado da filtragem da tabela `sessions`. Essa filtragem trará como resposta apenas as sessões dos animais que possuem a idade em dias (`age_in_days`) no intervalo de 100 a 120 dias. Como já citado nesse trabalho, o método `head()` do pandas retorna por padrão as primeiras cinco linhas do *DataFrame*, como para a questão P1 a resposta só obtive quatro sessões, todas elas são apresentadas. É possível ajustar esse código para acomodar mais campos como uma filtragem na coluna `session_type`, além de outras características.

Outra pergunta que pode ser feita diz respeito a quantidade de sessões (gravações) de

camundongos fêmeas do genótipo Sst em que foi visualizada atividade na área do TH. Para a Figura 23 obtém-se 17 respostas para a pergunta feita e para fins de proporção da imagem, esta foi cortada de forma a apresentar apenas duas sessões das 17 totais e 4 colunas das 21 totais. Uma pergunta desse tipo é importante caso se deseje ver o comportamento em um sexo específico de animal, bem como um tipo de genótipo e uma área cerebral específica. É possível alterar os parâmetros dessa questão para visualizar apenas os machos ou então visualizar ambos os sexos, basta omitir a parte `sessions.sex == 'F'`, assim como alterar os parâmetros e acrescentar outros. Essa pergunta P2 foi apenas uma demonstração de como visualizar os dados da tabela filtrando com mais de um parâmetro, diferente da P1 que analisou só a idade do animal.

Talvez um bom pensamento para entender o que é gerado após essas filtrações seja imaginar que se está olhando a tabela original com todos os parâmetros (colunas) e recortando apenas os parâmetros que são do seu interesse. Isso não vai alterar a tabela original, apenas vai apresentar ao usuário uma nova forma filtrada da tabela original.

Figura 22 – P1: Quantos animais têm idade maior que 100 dias e menor que 120 dias

```

0s ✓ filtered_sessions = sessions[(sessions.age_in_days>=100)&(sessions.age_in_days<=120)]
print('Número de sessões:', len(filtered_sessions))
filtered_sessions.head()

```

➔ Número de sessões: 4

ecephys_session_id	behavior_session_id	date_of_acquisition	equipment_name	session_type
1064400234	1064442478	2020-11-18 14:45:26.403000+00:00	NP.1	EPHYS_1_images_G_3uL_reward
1064644573	1064666428	2020-11-19 15:18:01.372000+00:00	NP.1	EPHYS_1_images_H_3uL_reward
1128520325	1128557546	2021-09-15 14:12:33.506000+00:00	NP.0	EPHYS_1_images_H_3uL_reward
1128719842	1128774624	2021-09-16 13:51:43.599000+00:00	NP.0	EPHYS_1_images_G_3uL_reward

4 rows x 21 columns

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 23 – P2: Como encontrar todas as gravações de camundongos fêmeas Sst que contêm unidades da área TH (tálamo)

```

✓ [6] filtered_sessions = sessions[(sessions.sex == 'F') & \
0s                                     (sessions.genotype.str.find('Sst') > -1) & \
                                         (['TH' in acronyms for acronyms in
                                             sessions.structure_acronyms])]

print('Total de sessões:', len(filtered_sessions))
filtered_sessions.head()

```

Total de sessões: 17

ecephys_session_id	behavior_session_id	date_of_acquisition	equipment_name
1047977240	1048009327	2020-09-02 15:15:03.733000+00:00	NP.0
1048196054	1048222325	2020-09-03 14:25:07.290000+00:00	NP.0

Fonte: Elaborado pela autora

## 4.2 SEGUNDO CADERNO: VISUALIZAÇÃO GRÁFICA BÁSICA DAS SESSÕES

O primeiro caderno apresentou a tabela original, as sessões do experimento e os parâmetros de cada um. No segundo caderno (C2) o foco é apresentar uma visualização gráfica básica das sessões. Isso porque frequentemente se faz necessário analisar os dados de forma mais visual ou estatística para tentar perceber padrões e como os dados estão se comportando. Como dito anteriormente, cada caderno inicia com uma seção de Introdução e, no segundo caderno foi apresentado brevemente o conceito de histograma, que será gerado nesse caderno com os dados dos experimentos. Algumas células de código são iguais as do primeiro caderno, então as figuras do segundo caderno serão apenas de alguma diferença encontrada nesse novo caderno, bem como algumas das perguntas feitas, por esse motivo o índice do caderno 2 (C2), como mostrado abaixo, é menor que o do caderno 1 (C1).

- Introdução

- Instalação do SDK

- Primeiro acesso aos dados

- Preparando o cache para baixar os arquivos

- Criando Perguntas

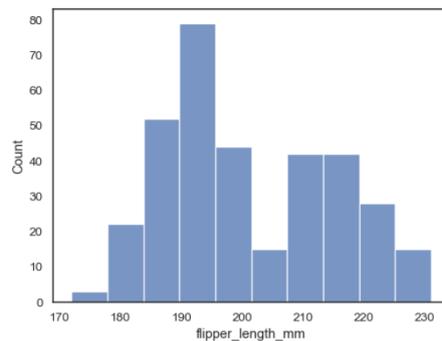
A Figura 24 é referente a uma parte da Introdução do caderno que traz um breve conceito sobre histograma, que é um gráfico de distribuição de frequência que será bastante utilizado nesse novo caderno.

Figura 24 – Introdução do segundo caderno sobre o AllenSDK (C2)

#### ▼ Introdução

Esse é o **Caderno 2** de uma série de cadernos sobre como acessar os dados do *Allen Institute for Brain Science*. O foco desse caderno será a **visualização gráfica básica das sessões** que foram abordadas no **Caderno 1**. Por isso, vamos considerar que você já viu a parte introdutória do **Caderno 1** e agora daremos seguimento as demais atividades.

#### Histograma



O histograma é uma espécie de gráfico de barras que permite verificar a distribuição de frequência de um determinado dado. Essa forma facilita a visualização dos dados e é um dos pontos que abordaremos nesse caderno. Como gerar um histograma dos dados do Instituto Allen.

Fonte: Elaborado pela autora

Perguntas selecionadas do segundo caderno:

- *P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias?*
- *P2: Como seria o histograma das idades dos animais do sexo masculino?*
- *P3: Como criar um histograma separando os animais de acordo com o genótipo?*
- *P4: Como encontrar todas as gravações de camundongos machos separados por genótipo que contêm unidades da área TH (tálamo)?*

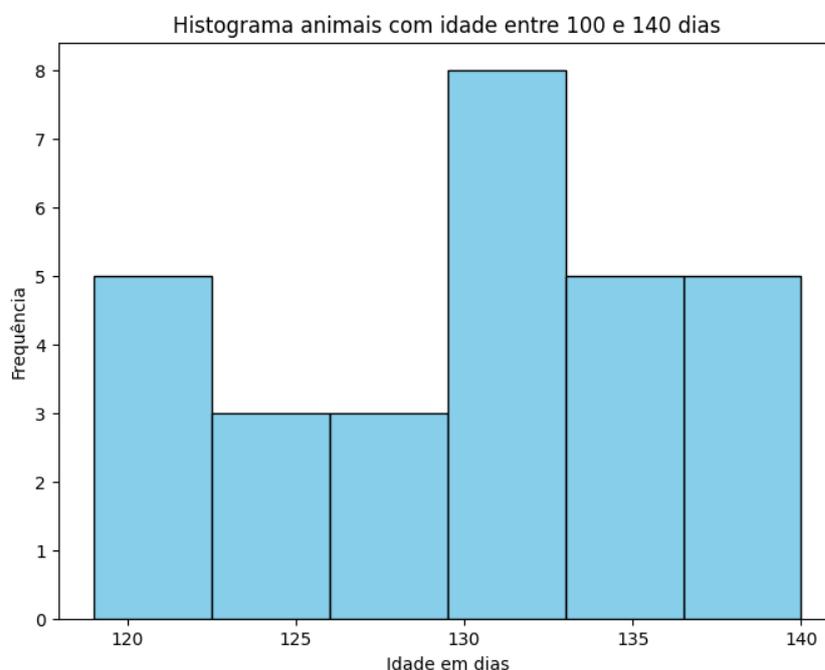
A pergunta P1 do segundo caderno é bastante parecida com a que foi feita na pergunta P1 do primeiro caderno, só que como o foco do C2 é a visualização gráfica, essa nova pergunta foca em esboçar o histograma dos animais que estão em uma dada faixa de idade, isso facilita uma melhor visualização da distribuição dos animais nessa faixa etária, sendo possível verificar se existe algum padrão, alguma idade em que há maior número de animais, qual possui menor número, entre outros critérios. As Figuras 25, 26 e 27 são referentes a P1. Sendo histograma, código e explicação do código, respectivamente. Como a ideia do caderno é tornar a leitura e o entendimento dos dados acessíveis para o usuário, existe um campo chamado explicação do código que detalha linha por linha o que está sendo executado.

O código da P1 é bastante moldável caso se deseje analisar outras características das sessões. É visível que ele possui linhas de código similares as do primeiro caderno. A variável **filtered\_sessions** que foi criada e formada por uma tabela retornando todas as sessões com faixa etária dentro do limite estipulado pela pergunta, agora será analisada para extrair apenas a informação referente a idade e isso será armazenado na variável **idades** para que seja feito um histograma, que vai mostrar a distribuição dos animais ao longo dessa faixa etária. Os demais códigos são os rótulos e título do histograma, conforme está representado na Figura 26 e exposto também na Figura 27 que detalha cada linha do código.

**plt.figure(figsize=(8,6))** define o tamanho do quadro da imagem. Sendo o primeiro valor o comprimento e o segundo a altura.

**plt.hist(idades, bins='auto', color='skyblue', edgecolor='black')** vai gerar o histograma com os dados da variável **idades**, tendo o número de caixa (bins) definido automaticamente pelo software, sendo a cor dessas caixas definida como 'skyblue', mas é possível alterar para outra cor como 'red' e a borda da caixa tem cor 'black', sendo que também é possível alterá-la para outra cor a gosto do usuário.

Figura 25 – Histograma. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias?



Fonte: Elaborado pela autora

A pergunta P2 buscou acrescentar mais um filtro na tabela, nesse caso não se deseja ver mais uma faixa etária específica, mas sim avaliar como está a distribuição das idades para os animais do sexo masculino. Assim como proposto no primeiro caderno, essa pergunta

Figura 26 – Código do histograma. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias?

```

0s ✓ ▶ #Filtrando as sessões para retornar apenas as que possuem animais na faixa de idade escolhida
filtered_sessions = sessions[(sessions.age_in_days>=100)&(sessions.age_in_days<=140)]
print('Número de sessões:', len(filtered_sessions))
filtered_sessions.head()

# Extrair as idades das sessões filtradas
idades = filtered_sessions['age_in_days']

# Criar o histograma
plt.figure(figsize=(8, 6))
plt.hist(idades, bins='auto', color='skyblue', edgecolor='black')

# Adicionar rótulos e título
plt.xlabel('Idade em dias')
plt.ylabel('Frequência')
plt.title('Histograma animais com idade entre 100 e 140 dias')

# Exibir o histograma
plt.show()

```

📄 Número de sessões: 29

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 27 – Explicação do código. P1: Como criar um histograma dos animais que têm idade entre 100 e 140 dias?

- `filtered_sessions = sessions[(sessions.age_in_days>=100)&(sessions.age_in_days<=140)]` filtra as sessões da tabela
- `print` essa função serve para imprimir
- `len(filtered_sessions)` calcula o comprimento de `filtered_sessions`, nesse caso vai retornar o número das sessões filtradas.
- `filtered_sessions.head()` por padrão, ele mostra as primeiras cinco linhas da tabela gerada, a menos que seja especificado um número diferente dentro dos parênteses.
- `idades = filtered_sessions['age_in_days']` esta linha extrai a coluna 'age\_in\_days' do DataFrame `filtered_sessions` e a armazena na variável `idades`. Portanto, `idades` agora contém uma série de valores que representam as idades dos animais filtrados.
- `plt.figure(figsize=(8, 6))` essa linha determina o tamanho do quadro da figura, sendo o primeiro número (8) correspondente a largura e o segundo (6) a altura.
- `plt.hist(idades, bins='auto', color='skyblue', edgecolor='black')` esta linha cria um histograma dos dados contidos na variável `idades`. Ele usa a função `hist()` para criar o histograma, especificando os dados (`idades`), o método de determinação do número de bins ('auto', que significa que o número de bins será determinado automaticamente), a cor das barras do histograma ('skyblue') e a cor das bordas das barras ('black').
- `plt.xlabel('Idade em dias')` adiciona um rótulo ao eixo x do gráfico.
- `plt.ylabel('Frequência')` adiciona um rótulo ao eixo y do gráfico.
- `plt.title('Histograma animais com idade entre 100 e 140 dias')` adiciona um título ao gráfico.
- `plt.show()` Esta linha exibe o gráfico na tela.

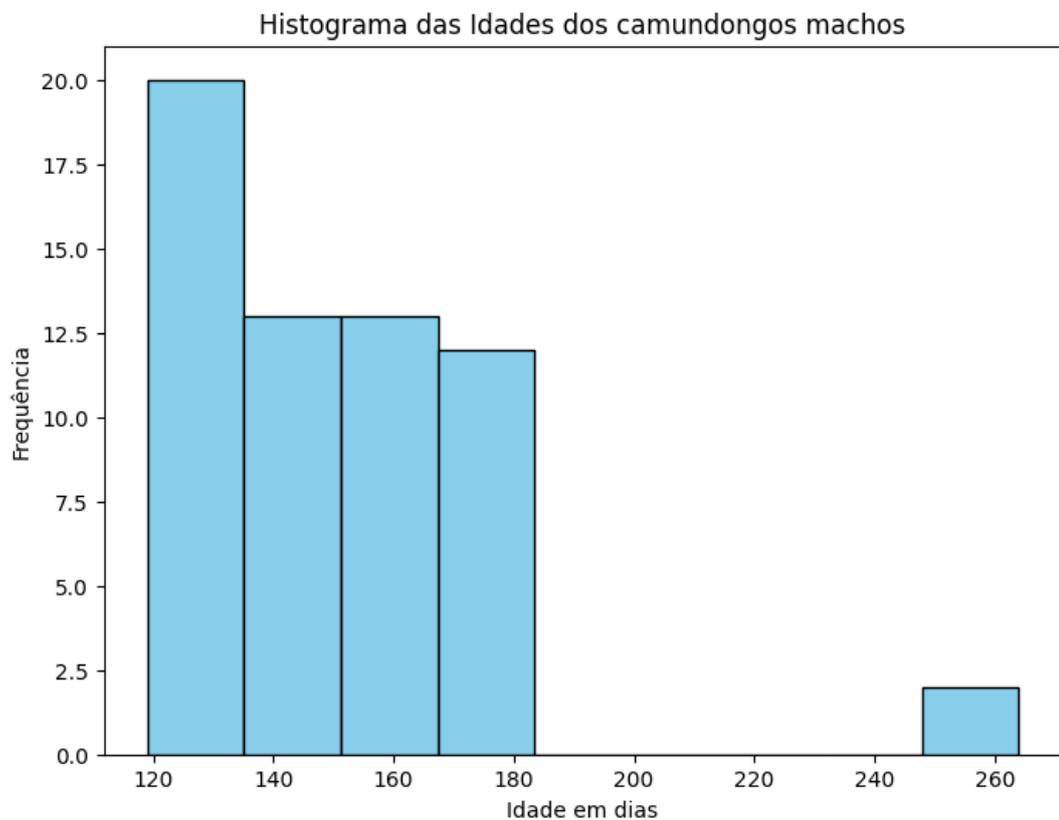
Fonte: Elaborado pela autora

pode ser válida caso o avaliador busque escolher um grupo de idade que abarque o maior número de animais que participaram do experimento, então ele conseguirá visualizar por meio do histograma qual a faixa etária mais adequada para elaborar seus questionamentos sobre os dados. As Figuras 28 e 29 são referentes a P2. Sendo histograma e código, respectivamente.

O código da P2 é bastante parecido com o da P1 desse mesmo caderno, mas agora

a pergunta filtra, além da idade do camundongo, o sexo do animal para extrair apenas as sessões que possuam sexo masculino, para ver a distribuição do número de animais machos ao longo de toda a faixa etária coberta pelo experimento. Com base na Figura 28 é visível que o maior número de sessões com animais machos está na faixa de idade entre 120 e pouco mais de 180 dias, sendo que existe uma faixa acima de 180 dias e pouco mais de 240 dias que não possui um animal sequer nesse intervalo.

Figura 28 – Histograma. P2: Como seria o histograma das idades dos animais do sexo masculino?



Fonte: Elaborado pela autora

A terceira pergunta, P3, visa analisar a distribuição da quantidade de animais pelos genótipos presentes no experimento. Saber quais genótipos estão presentes no experimento é importante porque, como dito na seção 2.10, os camundongos possuem um genoma muito semelhante ao genoma humano, uma aproximação entre 70 e 90%, o que permite estudos para investigação de doenças, funções e disfunções que possam estar relacionadas com essa categoria e alguns tipos de genótipos podem ser mais adequados que outros dependendo da finalidade do estudo.

O código é bastante parecido com o de perguntas anteriores, a diferença se encontra na variável genotipo que agora analisa apenas a coluna com os dados dos genótipos que

Figura 29 – Código do histograma. P2: Como seria o histograma das idades dos animais do sexo masculino?

```

0s ✓ ▶ filtered_sessions = sessions[(sessions.sex == 'M')]
print('Número de sessões:', len(filtered_sessions))
filtered_sessions.head()

# Extrair as idades das sessões filtradas
idades = filtered_sessions['age_in_days']

# Criar o histograma
plt.figure(figsize=(8, 6))
plt.hist(idades, bins='auto', color='skyblue', edgecolor='black')
# Adicionar rótulos e título
plt.xlabel('Idade em dias')
plt.ylabel('Frequência')
plt.title('Histograma das Idades dos camundongos machos')
# Exibir o histograma
plt.show()

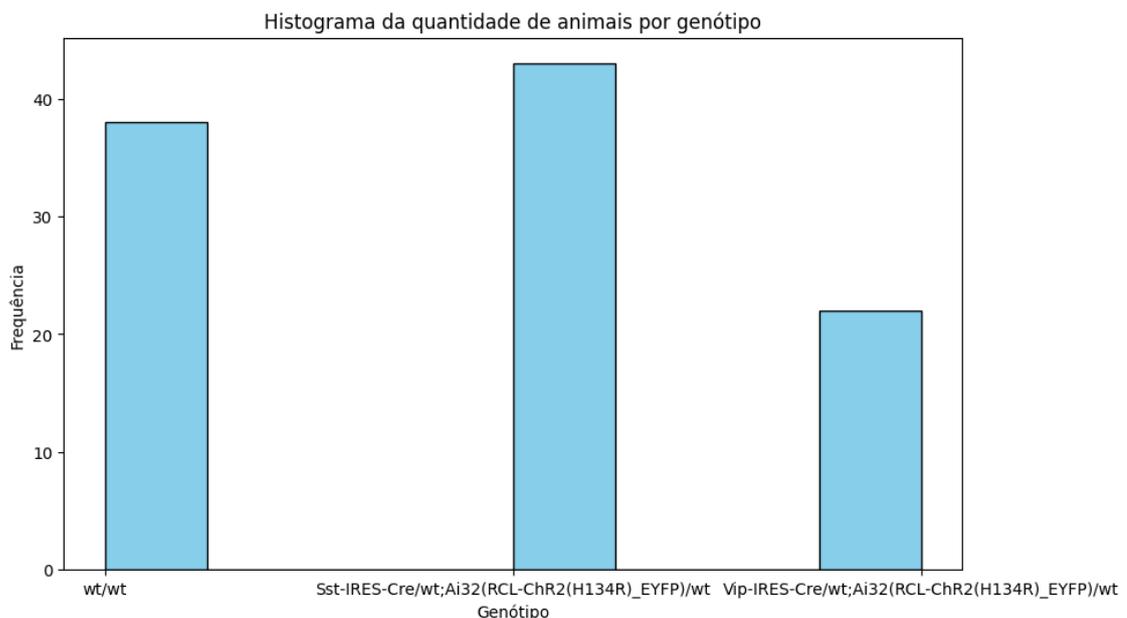
Número de sessões: 60

```

Fonte: Elaborado pela autora

constam na tabela sessions, a variável definida no começo do caderno que recebe todas as informações das sessões do experimento. As Figuras 30 e 31 são referentes a P3. Sendo histograma e código, respectivamente. É perceptível que o genótipo Sst é o que se encontra em maior quantidade nos dados do experimentos, com frequência acima de 40 sessões.

Figura 30 – Histograma. P3: Como criar um histograma separando os animais de acordo com o genótipo?



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 31 – Código do histograma. P3: Como criar um histograma separando os animais de acordo com o genótipo?

```
✓ 0s ▶ print('Número total de sessões: ' + str(len(sessions)))
      genotipo=sessions.genotype

      plt.figure(figsize=(10, 6))
      plt.hist(genotipo, bins='auto',color='skyblue', edgecolor='black')

      # Adicionar rótulos e título
      plt.xlabel('Genótipo')
      plt.ylabel('Frequência')
      plt.title('Histograma da quantidade de animais por genótipo')

      # Exibir o histograma
      plt.show()

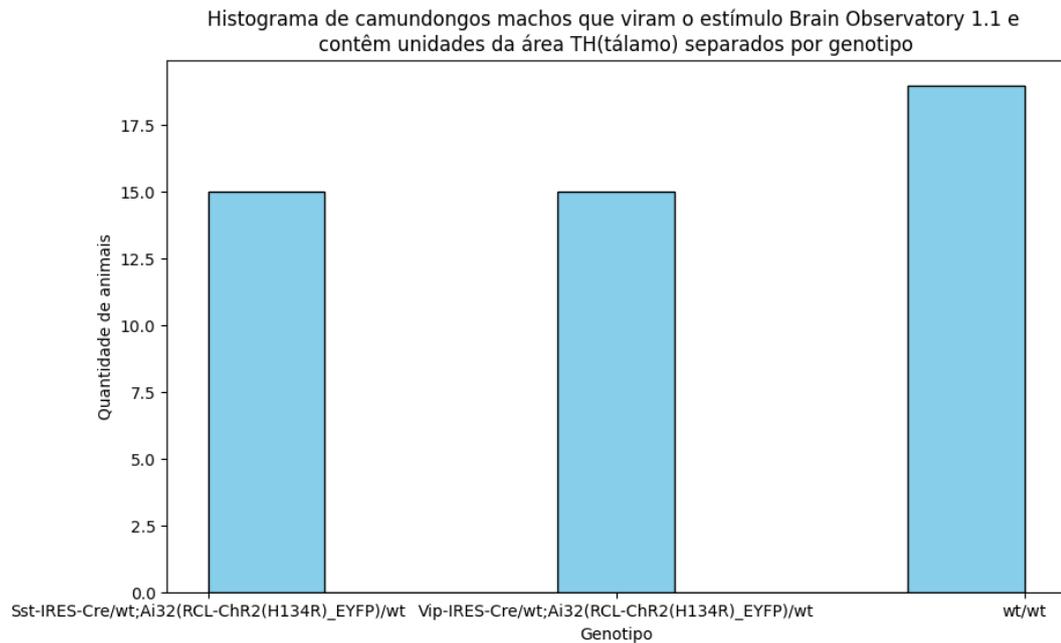
Número total de sessões: 103
```

Fonte: Elaborado pela autora

Com relação a quarta pergunta, P4, ela aplica mais filtros aos dados e traz também a questão do estímulo visualizado pelo animal do sexo masculino, bem como uma área específica do cérebro, que nesse caso foi o TH, mas poderia ser outra área dentre as disponibilizadas pelo *Allen Institute*, separando a quantidade de animais de acordo com o genótipo. Essa nova abordagem dos dados permite visualizar qual genótipo apresentou um maior número de animais que viram o estímulo Brain Observatory 1.1 com atividade na área talâmica. Posteriormente poderia ser feita uma adaptação no código para descobrir qual área cerebral teve mais atividade para esse estímulo. As Figuras 32 e 33 são referentes a P4. Sendo histograma e código, respectivamente. Na Figura 32 visualiza-se que o número de sessões para os genótipos Ssp e Vip são iguais, sendo um número de 15 sessões e o genótipo wt/wt foi o que apresentou maior frequência de animais, acima de 17 sessões.

O código da P4 é bastante parecido com o de questões anteriores, acrescentando outros parâmetros que se deseja visualizar. Porém, com relação a geração do histograma, o tamanho do quadro da imagem, rótulo dos eixos e título do histograma, tudo segue o mesmo princípio das questões que antecederam a P4.

Figura 32 – Histograma. P4: Como encontrar todas as gravações de camundongos machos separados por genótipo que contêm unidades da área TH (tálamo)?



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 33 – Código do histograma. P4: Como encontrar todas as gravações de camundongos machos separados por genótipo que contêm unidades da área TH (tálamo)?

```

0s ✓
▶ filtered_sessions = sessions[(sessions.sex == 'M') & \
                               (['TH' in acronyms for acronyms in
                                sessions.structure_acronyms])]

print('Total de sessões:', len(filtered_sessions))
# filtered_sessions.head()

'''Supondo que 'filtered_sessions' seja o seu DataFrame e
'full_genotype' seja o nome da coluna que você deseja visualizar
...
plt.figure(figsize=(10, 6))

# 'bins' é o número de bins (caixas) do histograma
plt.hist(filtered_sessions['genotype'], bins='auto', color='skyblue', edgecolor='black')

plt.xlabel('Genotipo') # Adiciona o rótulo do eixo x
plt.ylabel('Quantidade de animais') # Adiciona o rótulo do eixo y
plt.title('Histograma de camundongos machos que viram o estímulo Brain Observatory 1.1 e \
\contêm unidades da área TH(tálamo) separados por genotipo')

plt.show() # Exibe o histograma

Total de sessões: 49

```

Fonte: Elaborado pela autora

#### 4.3 TERCEIRO CADERNO: MEDIDAS BÁSICAS DA ATIVIDADE UNITÁRIA.

O terceiro caderno (C3) apresenta medidas básicas da atividade unitária. A seção de Introdução desse caderno abordou brevemente conhecimentos sobre histograma, *boxplot* e gráfico

de violino que são tópicos que aparecerão no desenvolvimento das perguntas. O caderno 3 busca trazer novos conhecimentos, mas não deixa de utilizar informações que foram obtidas em cadernos anteriores, já que a ideia dos cadernos é gerar uma série contínua e progressiva de conhecimento. Algumas células de código são iguais as dos primeiros cadernos, então as figuras do resultado do terceiro caderno serão apenas de alguma diferença encontrada nesse novo caderno, bem como algumas das perguntas feitas, sendo o índice do caderno 3 (C3) mostrado abaixo.

- Introdução

  - Histograma

  - Boxplot

  - Gráfico de violino

- Instalação do SDK

  - Primeiro acesso aos dados

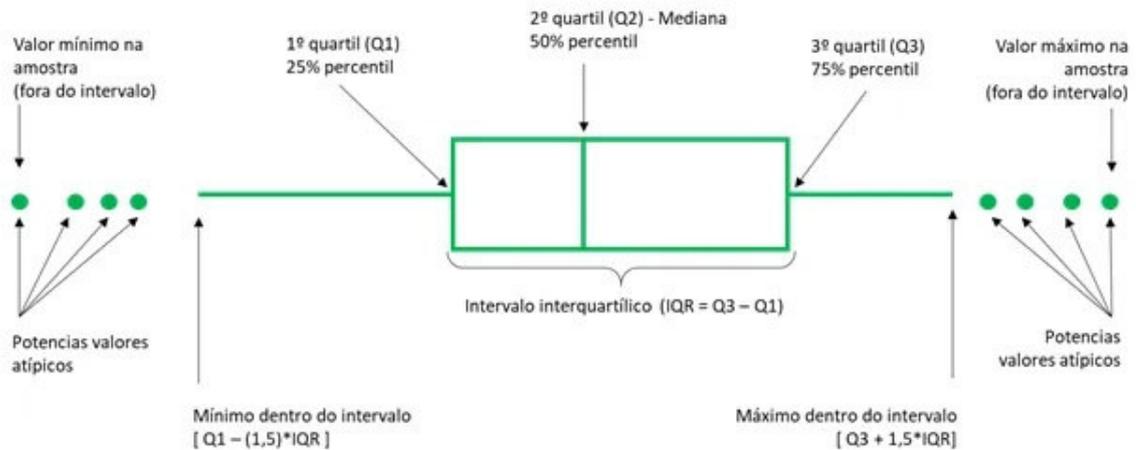
    - Preparando o cache para baixar os arquivos

- Criando Perguntas

O **boxplot** ou diagrama de caixas é uma forma de visualizar os dados em que a variação dos dados se torna visível por meio de quartis, além da representação visual da mediana, limites inferiores e superiores dos dados e os *outliers* ou valores discrepantes que são os dados que fugiram do padrão dos dados, divergem do total, são maiores ou menores que os limites superior e inferior. A representação de um *boxplot* está presente na Figura 34.

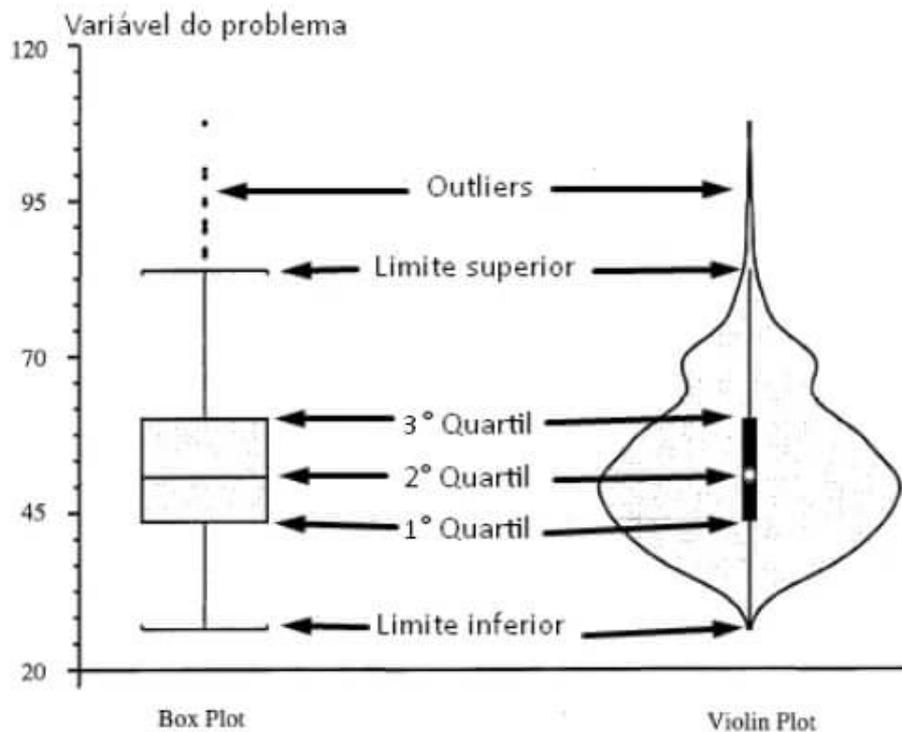
O **gráfico de violino** é uma ferramenta gráfica interessante, porque permite uma visualização dos dados como se fosse a união entre o histograma e o *boxplot*, sendo possível representar mais de uma variável em um gráfico só. A exposição de um gráfico de violino está presente na Figura 35 com o *boxplot* ao seu lado para facilitar a comparação entre os dois e a análise de como os dados ficam distribuídos nessas duas formas de representação gráfica. Nem sempre essa ferramenta será adequada para a abordagem dos dados, porque se torna difícil interpretar a imagem, sendo melhor a representação por outros métodos como os já citados histograma e *boxplot*. Isso acontece muito quando a amostra é composta por poucos dados, então cabe ao usuário definir qual ferramenta vai utilizar.

Figura 34 – Representação de um histograma.



Fonte: (SIERVI, 2019)

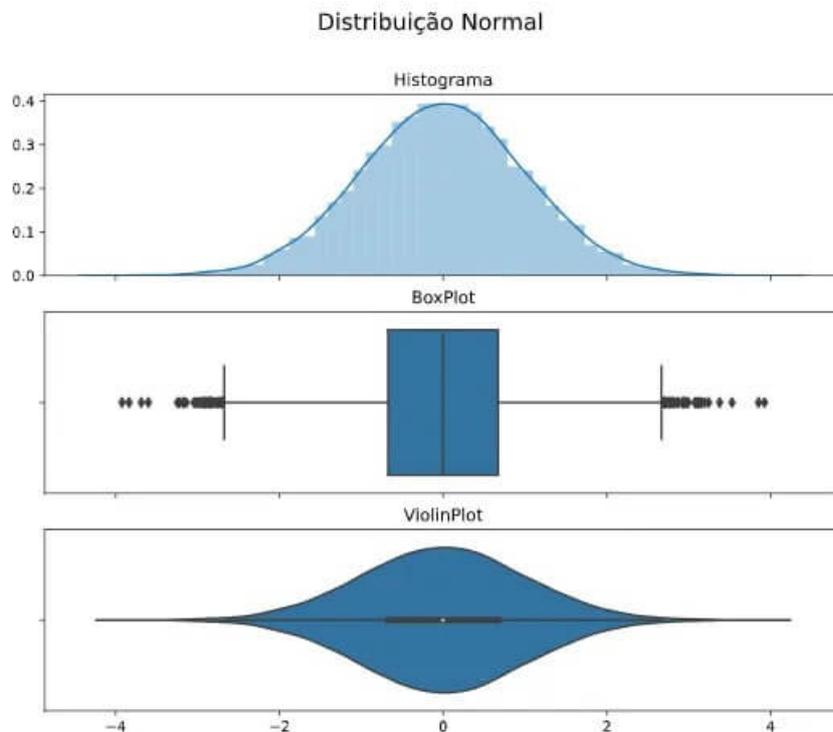
Figura 35 – Representação de um boxplot com o apontamento dos itens que o compõe em comparação com um gráfico de violino



Fonte: (ROSAL, 2021)

Como a introdução do caderno 3 abordou histograma, *boxplot* e gráfico de violino, a Figura 36 mostra a comparação desses três tipos de representação para dados com distribuição normal, isto é, uma gaussiana em que os dados ficam distribuídos de forma simétrica no histograma. Nessa figura fica visível que as marcas no centro do *boxplot* e do gráfico de violino correspondem a mediana dos dados, que separa os dados em duas metades, uma de valores maiores e outra de valores menores.

Figura 36 – Comparação de como fica a distribuição dos dados de uma distribuição normal representados em um histograma, boxplot e gráfico de violino, em que é possível ver como o gráfico de violino consegue abordar as informações presentes no histograma e no boxplot



Fonte: (ROSAL, 2021)

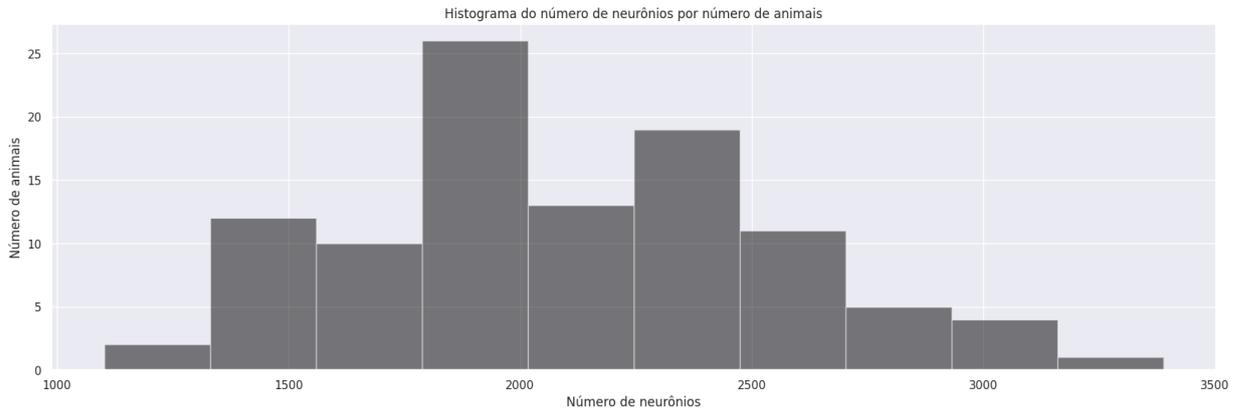
Perguntas selecionadas do terceiro caderno:

- *P1: Como é a distribuição do número de neurônios por número de animais?*
- *P2: Como seria a sobreposição dos histogramas do número de neurônios de animais machos e fêmeas*
- *P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo)*
- *P4: Qual a distribuição do número de neurônios dos animais que contêm atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior do tálamo)*

Para a primeira pergunta P1 do terceiro caderno, o interesse passa a ser a visualização de como é a distribuição do número de neurônios por número de animais. Isto é, saber quantos animais possuem determinada quantidade de neurônios. A representação visual dos dados foi feita por meio de um histograma que consta na Figura 37, já na Figura 38 consta o seu código.

O código da P1 é composto por:

Figura 37 – Histograma. P1: Como é a distribuição do número de neurônios por número de animais?



Fonte: Elaborado pela autora

**print** serve para imprimir a mensagem com o número total de sessões. Uma função que nesse momento já deve ser bastante conhecida, tendo em vista que ela foi utilizada muitas vezes nesses cadernos.

**atividade** declara-se a variável atividade que receberá os dados da coluna `unit_count` que traz informações sobre o número de neurônios da sessão.

**plt.figure** define o tamanho do quadro da imagem como 20 de comprimento e 6 de largura. Linha de código também já conhecida de cadernos anteriores, mas agora o comprimento é 20 e não 8 como apareceu antes.

**plt.hist** serve para plotar o histograma. Nota-se um novo parâmetro dentro dos parênteses. O parâmetro `alpha`, esse parâmetro é responsável por determinar a transparência da figura. O valor vai de 0 a 1, sendo 1 a cor normal e sólida, sem transparência.

A segunda pergunta selecionada do caderno foi a P2 que trabalha com a comparação e plotagem de dois histogramas simultaneamente. Isso é importante para que se consiga visualizar de forma mais clara e direta quais intervalos se apresentam em comum entre dois histogramas diferentes. No caso dessa pergunta, ela trata de dois histogramas, um para cada sexo, cada um traz informações sobre quantidade de neurônios para cada camundongo. Desta forma será possível visualizar qual intervalo tem o valor médio de neurônios para ambos os sexos. Permitindo assim, verificar qual a maior frequência de animais machos ou fêmeas, quais quantidades de neurônios parecem ser comuns a ambos os sexos e outras observações. As Figuras 39 e 40 são referentes a P2. Sendo histograma e código, respectivamente.

Com relação ao código da P2 presente na Figura 40, ele traz o seguinte:

**sessions[sessions.sex == 'F']** a linha em que consta esse código vai analisar na coluna `sex` da tabela `sessions` quais sessões apresentam F, correspondendo aos animais fêmeas. Esse

Figura 38 – Código do histograma. P1: Como é a distribuição do número de neurônios por número de animais?

```

0s ✓ ▶ print('Número total de sessões : ' + str(len(sessions)))
atividade=sessions.unit_count

plt.figure(figsize=(20, 6))
plt.hist(atividade, bins='auto',color='black',edgecolor='white', alpha=0.5)

# Adicionar rótulos e título
plt.xlabel('Número de neurônios')
plt.ylabel('Número de animais')
plt.title('Histograma do número de neurônios por número de animais')

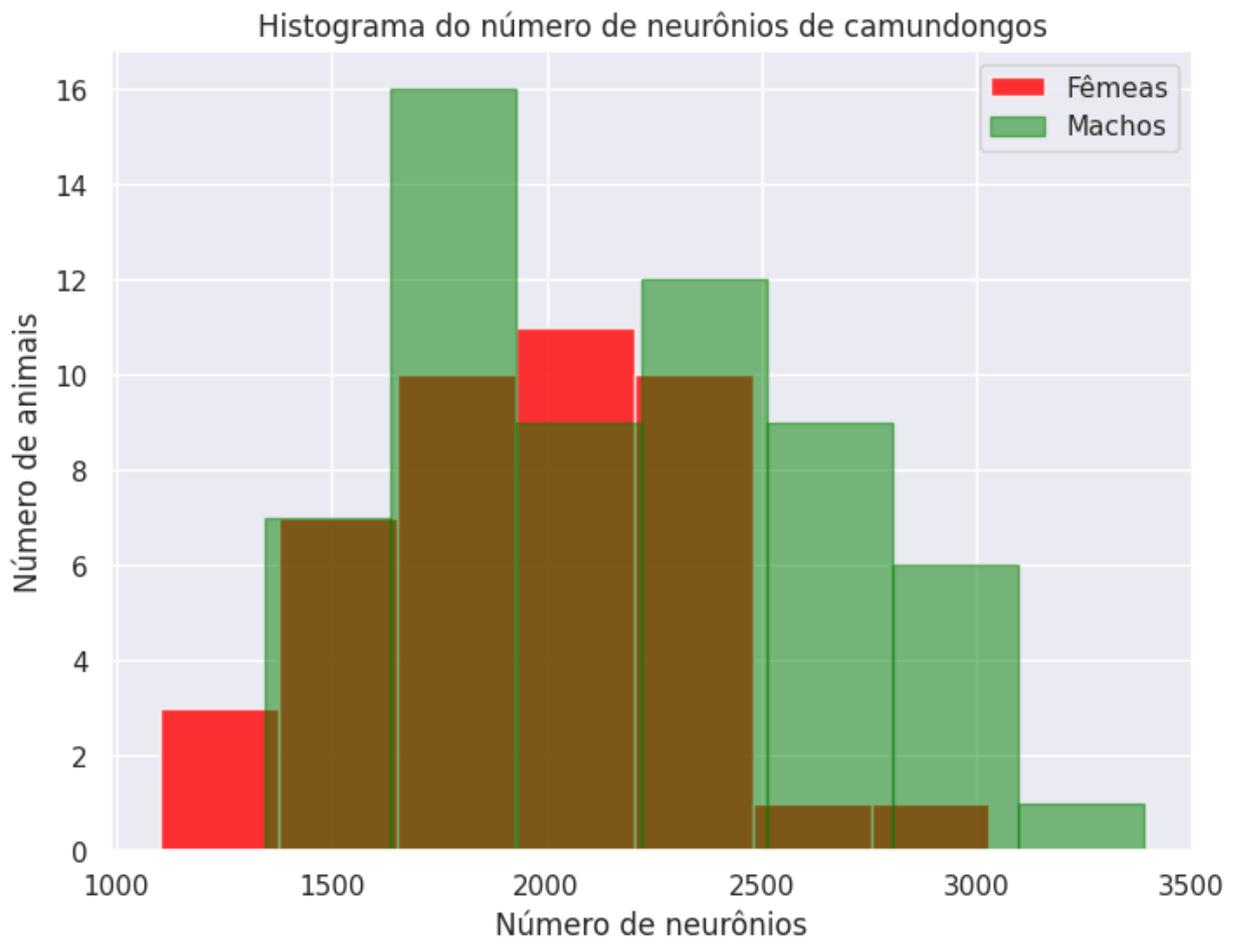
# Exibir o histograma
plt.show()

Número total de sessões : 103

```

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 39 – Histograma. P2: Como seria a sobreposição dos histogramas do número de neurônios de animais machos e fêmeas



Fonte: Elaborado pela autora

código é bastante adaptável, podendo alterar o F por M e assim obter as sessões com animais machos. Foi o que aconteceu na linha seguinte. Filtrou-se a tabela duas vezes, uma coletando apenas as sessões com animais fêmeas e outra coletando as sessões com animais machos, tudo isso para plotar o histograma correspondente de cada sexo dos animais separadamente e por fim sobrepô-los para visualizar as intercessões.

`filtered_sessions_f['unit_count']` irá filtrar a tabela que foi gerada no código anterior que armazenou apenas as sessões de animais fêmeas e fará uma nova filtragem, armazenando em um nova variável, chamada de `unidade_f`, e que depois será usada para gerar o histograma dos animais fêmeas. O mesmo acontecerá para os animais machos, bastando usar a tabela que contém apenas as sessões com animais machos.

`plt.show()` mostra para o usuário os histogramas que foram gerados, sem essa linha os histogramas não aparecerão.

Nota-se que boa parte das linhas de código são parecidas com outras que já foram utilizadas. Para a tabela `sessions` faz-se importante explicar que para navegar por suas colunas, basta criar um código com uma variável do tipo `sessions[sessions.nomeDaColuna]`. Essa variável irá receber a tabela filtrada com os parâmetros que foram definidos dentro da área entre colchetes.

A pergunta P3 trabalha com a distribuição do número de neurônios para as gravações que tenham animais fêmeas com unidades na área LP e separa essa distribuição de acordo com o genótipo. A exibição desses dados por meio do gráfico de violino permite que a pessoa que está analisando os dados consiga comparar a distribuição de diferentes genótipos ao mesmo tempo, sem a necessidade de olhar mais de uma figura para conseguir comparar como é a relação para os três diferentes tipos de genótipo. Nesse caso fica visível que para o genótipo Vip só existe um único animal que atende aos critérios estabelecidos na questão.

Percebe-se que a exibição foi melhor para os dados dos genótipos wt e Sst porque eles possuem um número maior de animais que atenderam aos critérios, entretanto um ponto crítico que esse tipo de representação pode ter é o caso em que mais de um animal possui o mesmo número de neurônios, porque as barras verticais ficariam sobrepostas e talvez não fosse possível visualizar se se tratava de apenas um ou dois animais. No gráfico de violino da Figura 41, cada linha vertical representa um dado, logo, quanto mais linhas estiverem dentro do gráfico, significa que há uma frequência maior de animais para aquela variável.

A Figura 41 representou os dados como traços verticais, já a Figura 42 que corresponde aos mesmos dados, apresenta o primeiro quartil, segundo quartil (mediana) e terceiro quartil

Figura 40 – Código do histograma. P2: Como seria a sobreposição dos histogramas do número de neurônios de animais machos e fêmeas

```

0s ✓ # Filtrar sessões femininas
filtered_sessions_f = sessions[sessions.sex == 'F']
print('Número de sessões femininas:', len(filtered_sessions_f))

# Filtrar sessões masculinas
filtered_sessions_m = sessions[sessions.sex == 'M']
print('Número de sessões masculinas:', len(filtered_sessions_m))

# Extrair as atividades das sessões filtradas
unidade_f = filtered_sessions_f['unit_count']
unidade_m = filtered_sessions_m['unit_count']

# Criar o histograma
plt.figure(figsize=(8, 6))
plt.hist(unidade_f, bins='auto', color='red', edgecolor='white', alpha=0.8, label='Fêmeas')
plt.hist(unidade_m, bins='auto', color='green', edgecolor='green', alpha=0.5, label='Machos')

# Adicionar rótulos e título
plt.xlabel('Número de neurônios')
plt.ylabel('Número de animais')
plt.title('Histograma do número de neurônios de camundongos')

# Adicionar legenda
plt.legend()

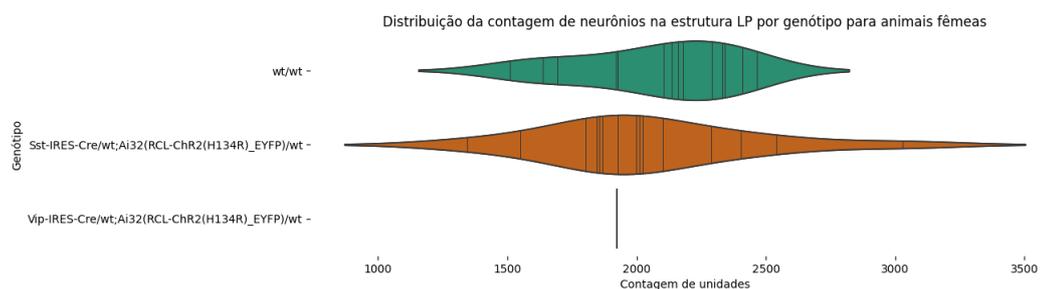
# Exibir o histograma
plt.show()

```

 Número de sessões femininas: 43  
Número de sessões masculinas: 60

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 41 – Gráfico de violino com animais representados por traços verticais. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo)

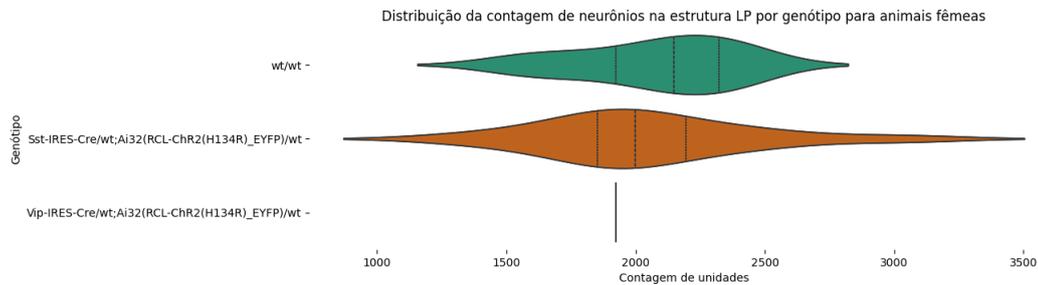


Fonte: Elaborado pela autora

dos dados, o que é uma visualização interessante para ver como está a distribuição dos dados, sendo o primeiro, segundo e terceiro traços, respectivamente da esquerda para a direita. Para conseguir visualizar a mediana em vez dos camundongos como traços verticais, é preciso alterar no código a parte **inner='stick'** e substituir o **stick** por **quart** para visualizar os quartis ou mudar a representação dos animais para pontos em vez de traços, para isso deve-se trocar

stick por **point**. O código presente na Figura 43 serve para mostrar na tela a quantidade de animais presentes em cada um dos genótipos que foram representados no gráfico de violino.

Figura 42 – Gráfico de violino com quartis. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo)



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 43 – Código para visualização da quantidade de animais para cada genótipo. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo)

```

✓ [15] genotype_unico = filtered_sessions['genotype'].unique()
0s contagem_genotype = filtered_sessions['genotype'].value_counts()
print('Número referente a cada genótipo:', contagem_genotype)

Número referente a cada genótipo: Sst-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP)/wt    15
wt/wt    14
Vip-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP)/wt    1
Name: genotype, dtype: int64

```

Fonte: Elaborado pela autora

A figura 44 traz o código para a geração do gráfico de violino e apresenta-se bastante similar aos códigos de outras questões, com detalhe especial na parte em que se gera o violino que é a linha **sns.violinplot**. A linha seguinte que é a **sns.despine** trata de definir que o gráfico não vai apresentar bordas nem laterais nem superiores. **inner='stick'** define a forma como os dados serão representados, que nesse caso são as barras verticais dentro do gráfico de violino, correspondendo a cada animal. As próximas linhas de código vão renomear os eixos do gráfico. Como citado anteriormente, **sns** equivale a biblioteca **seaborn**, foi a forma que ela foi apelidada para que ao escrever o código não fosse preciso escrever **seaborn**, que no caso do gráfico de violino ficaria ela seria chamada pelo nome **seaborn.violinplot**, que também funciona, mas é extenso, podendo até esquecer uma letra do nome, que geraria um erro.

A questão P4 aborda a distribuição da quantidade de neurônios para animais que apresentam atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior). As Figuras 45 e 46 são referentes

Figura 44 – Código do gráfico de violino. P3: Como está a distribuição de número de neurônios para todas as gravações de camundongos fêmeas separados por genótipo que contêm unidades da área LP (núcleo lateral posterior do tálamo)

```

0s print('Número total de sessões: ' + str(len(sessions)))

filtered_sessions = sessions[(sessions.sex == 'F') & \
                              (('LP' in acronyms for acronyms in
                               sessions.structure_acronyms))]

print('Número de sessões filtradas:', len(filtered_sessions))
filtered_unit = filtered_sessions['unit_count']
filtered_genotype = filtered_sessions['genotype']

tabela_nova = pd.merge(filtered_unit, filtered_genotype, on="ecephys_session_id")

figsize = (12, 1.2 * len(tabela_nova['genotype'].unique()))
plt.figure(figsize=figsize)
sns.violinplot(tabela_nova, x='unit_count', y='genotype', inner='stick', palette='Dark2')
sns.despine(top=True, right=True, bottom=True, left=True)

# Renomeia os eixos x e y
sns_plot = sns.violinplot(data=tabela_nova, x='unit_count', y='genotype', inner='stick', palette='Dark2')
sns_plot.set_xlabel('Contagem de unidades')
sns_plot.set_ylabel('Genótipo')

```

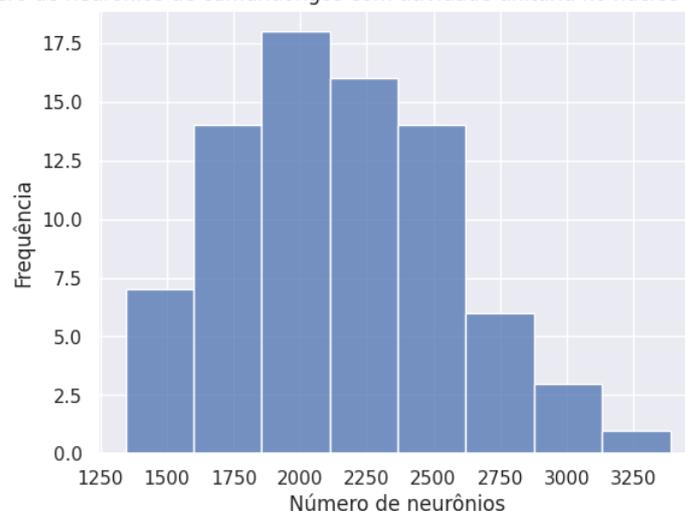
 Número total de sessões: 103  
 Número de sessões filtradas: 30

Fonte: Elaborado pela autora

a P4. Sendo histograma e código, respectivamente. Nota-se que um maior número de animais com atividade na estrutura LP possui uma quantidade entre 2000 e 2250 do número de neurônios, equivalente a aproximadamente 18 animais.

Figura 45 – Histograma. P4: Qual a distribuição do número de neurônios dos animais que contêm atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior do tálamo)

Histograma da número de neurônios de camundongos com atividade unitária no núcleo lateral posterior do tálamo (LP)



Fonte: Elaborado pela autora

O código da P4 possui um trecho extenso que está comentado. Esse código comentado

é uma outra variação do histograma, porém utilizando a biblioteca do matplotlib em vez a seaborn. A seaborn tem uma visualização mais agradável, com uma distribuição de cores bem estruturada. Já utilizando a biblioteca matplotlib o histograma tem uma imagem um pouco mais bruta, como foi visto nas questões do segundo caderno. Esse trecho do código serviu apenas para explicar que existe outra biblioteca que pode representar o histograma do mesmo dado.

`sns.set(style="darkgrid")` chama a função set da biblioteca sns com o estilo de gráfico darkgrid que deixa o fundo da imagem um pouco mais escuro e com linhas de grade, facilitando a legibilidade do gráfico.

Figura 46 – Código do histograma. P4: Qual a distribuição do número de neurônios dos animais que contêm atividade na estrutura LP (núcleo lateral posterior do tálamo)

```

05 print('Número total de sessões: ' + str(len(sessions)))
   print('Número de sessões filtradas:', len(filtered_sessions))

   #Filtra as sessões e seleciona apenas as que possuem atividade no tálamo
   filtered_sessions = sessions[[['LP' in acronyms for acronyms in sessions.structure_acronyms]]]

   ## Criar o histograma com matplotlib
   # unidade = filtered_sessions['unit_count']
   # plt.figure(figsize=(8, 6))
   # plt.hist(unidade, bins='auto', color='black', edgecolor='white')
   ## Adicionar rótulos e título
   # plt.xlabel('Número de neurônios')
   # plt.ylabel('Frequência')
   # plt.title('Histograma do número de neurônios de camundongos com atividade unitária na área visual')
   # # Exibir o histograma
   # plt.show()

   #Utilizando o seaborn para plotar o histograma
   sns.set(style="darkgrid")
   sns.histplot(data=filtered_sessions, x='unit_count')
   plt.xlabel('Número de neurônios')
   plt.ylabel('Frequência')
   plt.title('Histograma da número de neurônios de camundongos com atividade unitária \
no núcleo lateral posterior do tálamo (LP)')
   plt.show()

Número total de sessões: 103
Número de sessões filtradas: 79

```

Fonte: Elaborado pela autora

#### 4.4 QUARTO CADERNO: VISUALIZAÇÃO BÁSICA DA ATIVIDADE DO NEURÔNIO E POPULAÇÃO DE NEURÔNIOS.

O quarto caderno (C4) apresenta uma visualização básica da atividade do neurônio e população de neurônios. A seção de Introdução desse caderno abordou brevemente conhecimentos sobre spikes, potencial de ação, taxa de disparo e raster plot de neurônio que são tópicos que

---

aparecerão no desenvolvimento das perguntas. O acesso aos dados desse caderno é feito de outra forma, por meio de um arquivo salvo no Google Drive. As figuras do quarto caderno serão apenas algumas das perguntas abordadas nele. Abaixo encontra-se o índice de C4.

- Introdução

  - Spikes

  - Taxa de disparo

  - Raster Plot de neurônio

- Montando o drive com os arquivos do Allen

  - Criando uma variável com o caminho da pasta em que os arquivos estão armazenados

  - Importando as bibliotecas e demais ferramentas que podem ser úteis nesse caderno.

  - Listando os arquivos que estão na pasta que foi acessada no começo desse caderno.

    - Contando automaticamente o número de arquivos listados anteriormente

  - Acessando um arquivo da pasta citada anteriormente.

  - Os dados relativos às sessões se encontram em `sessions_info`

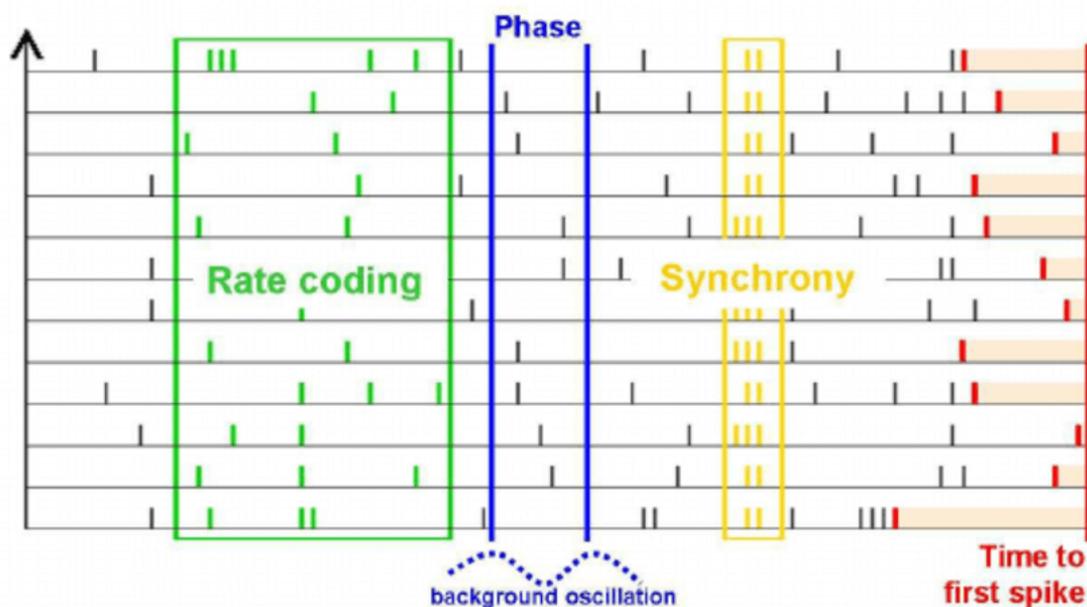
- Criando perguntas

O conhecimento de spikes/potencial de ação foi exposto no Capítulo 2. Quanto a taxa de disparo, essa corresponde a frequência que o neurônio gera potenciais de ação. Medir a taxa de disparo de neurônios é importante para entender como os padrões de atividade neuronal se relacionam com funções cognitivas, comportamentais e sensoriais. Em experimentos neurocientíficos, por exemplo, os pesquisadores frequentemente monitoram e analisam a taxa de disparo de neurônios para investigar como diferentes estímulos afetam a atividade neural e como essa atividade está relacionada a processos mentais específicos.

Um raster plot é uma representação gráfica de dados temporais, frequentemente utilizada em neurociência e em outras áreas relacionadas, como a análise de séries temporais em geral. Em neurociência, um raster plot é comumente usado para representar a atividade de neurônios ao longo do tempo. Neste tipo de gráfico, cada linha representa a atividade de um neurônio individual, e cada ponto ao longo da linha indica um evento de disparo do neurônio (como um

potencial de ação ou pulso elétrico). O eixo horizontal representa o tempo, enquanto o eixo vertical normalmente representa os neurônios individuais ou unidades de registro. Raster plots são úteis para visualizar padrões de atividade neuronal, como sincronização entre neurônios ou respostas a estímulos específicos. Eles também podem ser usados para analisar a relação temporal entre diferentes neurônios em uma rede neuronal. A Figura 47 apresenta uma demonstração de rasterplot e os diferentes métodos para a análise do código neural. A parte em amarelo mostra que os neurônios analisados nesses dados possuem disparos sincronizados, esse tipo de análise é importante para entender o comportamento neural e essa sincronia dos neurônios pode indicar que estão envolvidos em processos específicos, como a codificação de informações sensoriais ou a coordenação de movimentos. Entender a dinâmica de sincronização entre neurônios pode fornecer *insights* sobre a organização e funcionamento de redes neurais complexas. Por exemplo, padrões de sincronização anormais podem estar associados a distúrbios neurológicos como a epilepsia ou doenças neurodegenerativas.

Figura 47 – Exemplo de um gráfico de raster e ilustração de alguns métodos diferentes para analisar o código neural. Cada linha horizontal pode ser interpretada como um axônio no qual vemos spikes viajando (da esquerda para a direita).



Fonte: (ESCOBAR et al., 2008)

Perguntas selecionadas do quarto caderno:

- P1: Qual o sexo do animal selecionado para a sessão?
- P2: Quais são os diferentes genótipos armazenados no repositório?

- *P3: Com base nos genótipos desses dados que você visualizou em uma das primeiras perguntas desse caderno, algum era modificado geneticamente?*
- *P4: Apresente um histograma da taxa de disparo de cada neurônio.*
- *P5: Aproveitando o exemplo anterior, apresente o raster plot do neurônio 1053044447 no intervalo [1000,1002]s*
- *P6: Aproveitando a rotina implementada, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1002]s*
- *P7: Aproveitando as rotinas implementadas, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1002]s, ordenado pela taxa de disparo.*

Os experimentos desse banco de dados trabalha com ambos os sexos animais: macho e fêmea. Caso seja do interesse do usuário utilizar em sua pesquisa apenas animais de apenas um sexo, como o feminino, é possível realizar a filtragem dos dados utilizando o código `sessions_info.loc[session_id].sex` presente na Figura 48, que permite observar que o animal selecionado para a sessão atual trata-se de uma fêmea.

Esse código está acessando a coluna `sex` do `sessions_info` usando um índice `session_id`.

**sessions\_info**: contém informações sobre várias sessões. Cada linha da tabela representa uma sessão e cada coluna contém informações específicas sobre essa sessão, como ID da sessão, sexo do animal, idade, etc.

**loc[session\_id]**: O método `loc` é usado para acessar um grupo de linhas e colunas pelo rótulo (ou índice). Neste caso, `session_id` é o rótulo da linha que queremos acessar. Isso retorna a linha inteira correspondente ao `session_id`.

**.sex**: Depois de acessar a linha correspondente ao `session_id`, `.sex` é usado para acessar o valor na coluna `sex` dessa linha.

Figura 48 – Código. P1: Qual o sexo do animal selecionado para a sessão?

```
[12] print ('Sexo do animal selecionado para a sessão: ', sessions_info.loc[session_id].sex)
Sexo do animal selecionado para a sessão: F
```

Fonte: Elaborado pela autora

Um ponto interessante na análise de dados eletrofisiológicos de camundongos é saber com qual genótipo se está trabalhando, porque diferentes tipos de linhagens e genótipos podem ter diferentes aplicações, sendo uns mais utilizados em pesquisas genômicas, sobre doenças e

afins. Com isto em mente, a segunda questão P2 do quarto caderno C4 busca obter dos dados as informações relativas aos genótipos presentes nesse banco de dados. Utilizando o método `.unique` da biblioteca *pandas* é possível obter os valores únicos referentes aos genótipos dos animais no atual banco de dados, para isso é preciso escrever a linha de código presente na Figura 49, referente a P2 que traz `sessions_info.genotype.unique` e retorna três diferentes tipos de genótipos: Vip-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)\_EYFP/wt, wt/wt, Sst-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)\_EYFP/wt. O método `.unique` utilizado nessa questão pode ser aplicado para outras colunas também para obter os valores únicos de cada uma. Na coluna referente ao sexo dos animais, esse método retornará F e M que são os dois sexos presentes nesses experimentos.

Figura 49 – Código. P2: Quais são os diferentes genótipos armazenados no repositório?

```

✓ [16] sessions_info.genotype.unique()
0s
array(['Vip-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP/wt', 'wt/wt',
      'Sst-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP/wt'], dtype=object)

```

Fonte: Elaborado pela autora

Em questões anteriores foi empregado trabalho para descobrir quais os genótipos presentes nesse conjunto de dados, uma questão importante de se destacar é a presença da expressão wt que vem de *wild type*, com tradução livre para o português como *tipo selvagem*, refere-se ao animal que não foi geneticamente modificado. A Figura 50, referente a terceira questão, apresenta o resultado encontrado após a implementação do código que analisou todos os genótipos do conjunto de dados, como o resultado apresentou wt em todos os genótipos disponíveis, isso quer dizer que os animais desses dados não são geneticamente modificados.

Figura 50 – Código. P3: Com base nos genótipos desses dados que você visualizou em uma das primeiras perguntas desse caderno, algum era modificado geneticamente?

Se ele apresentar wt (wide type) no genótipo, isso significa que o animal não é geneticamente modificado.

```

✓ [42] sessions_info.genotype.unique()
0s
array(['Vip-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP/wt', 'wt/wt',
      'Sst-IRES-Cre/wt;Ai32(RCL-ChR2(H134R)_EYFP/wt'], dtype=object)

✓ [43] print('Não é modificado geneticamente')
0s
Não é modificado geneticamente

```

Fonte: Elaborado pela autora

Assim como foi abordado em cadernos anteriores, o histograma é uma ferramenta visual útil para a análise dos dados e dessa forma foi aplicado para a exploração da distribuição da taxa de disparo dos neurônios estudados. A Figura 51, referente a P4, aponta para uma taxa de disparo média de aproximadamente 4,34 disparos para cada neurônio, o que é visível pelo histograma que apresenta uma frequência maior perto do início do gráfico no intervalo entre 0 e 5 disparos. Um número menor de neurônios, menos que 5 neurônios, apresentou taxa de disparo entre 25 e 30 disparos, isso é visível pela menor concentração de dados no final do histograma. Da seguinte forma o código desenha o histograma dos dados além de calcular a média dos valores do `firing_rate` que guardas as informações sobre a taxa de disparo de cada neurônio da população:

**`firing_rate.hist(bins=20)`**: Esta linha cria um histograma dos valores de taxa de disparo (`firing_rate`).

**`firing_rate`**: contém as taxas de disparo para cada neurônio na população.

**`.hist(bins=20)`**: Este método gera um histograma dos valores na série `firing_rate`, dividindo os dados em 20 intervalos (`bins=20`). O histograma mostra a distribuição dos valores de taxa de disparo na população de neurônios.

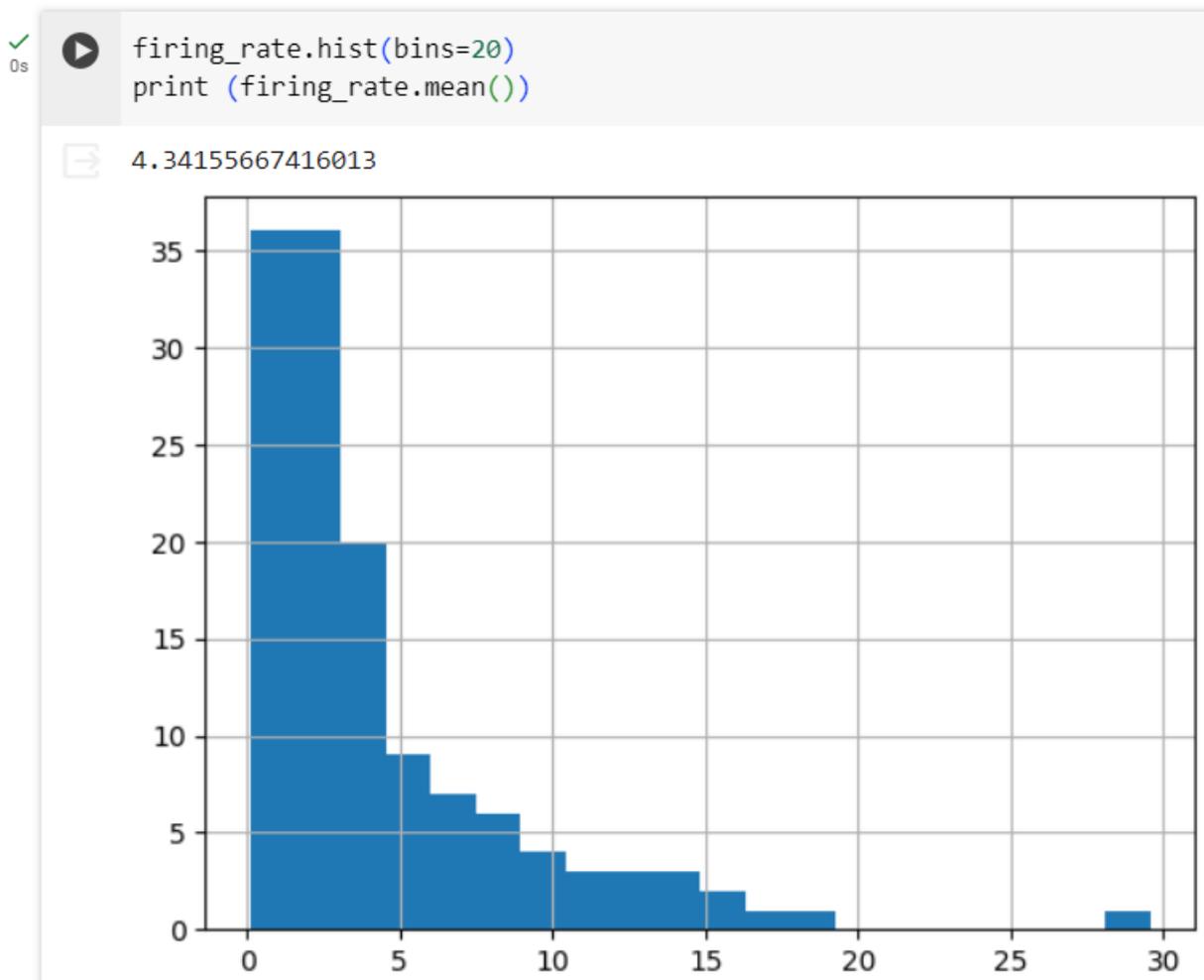
**`print(firing_rate.mean())`**: Esta linha calcula e imprime a média da taxa de disparo da população. O `.mean` é o método responsável pelo cálculo da média e ele calculará a média dos valores presentes no `firing_rate`.

Conforme exposto no início dos resultados do quarto caderno, o rasterplot de neurônio permite uma análise visual da atividade dos neurônios ao longo do tempo, sendo cada linha correspondente a um neurônio e cada coluna a uma unidade de tempo. Com ele é possível visualizar o comportamento dos neurônios com relação ao tempo. As Figuras 52 e 53 são referentes a P5 e mostram o rasterplot de um único neurônio e o código para a geração do gráfico. Este neurônio possui o ID 1053044447 e será visualizado no intervalo entre 1000 e 1002 unidades de tempo.

**`spk_neuron`** é uma variável que foi declarada para armazenar as informações referentes aos spikes do neurônio de ID 1053044447. Quanto ao **`a`** e **`b`** são variáveis usadas para declarar o tempo que se deseja formar o intervalo. Cada pontinho no gráfico é um disparo do neurônio em um determinado tempo, a representação na forma de ponto é dada pelo marcador `.k` em que o ponto representa o pontinho e o `k` representa a cor preta, então a representação será feita no gráfico na forma de pontos pretos.

A questão P5 trouxe o rasterplot de um neurônio específico em um intervalo de 1000 a

Figura 51 – Código e histograma. P4: Apresente um histograma da taxa de disparo de cada neurônio.

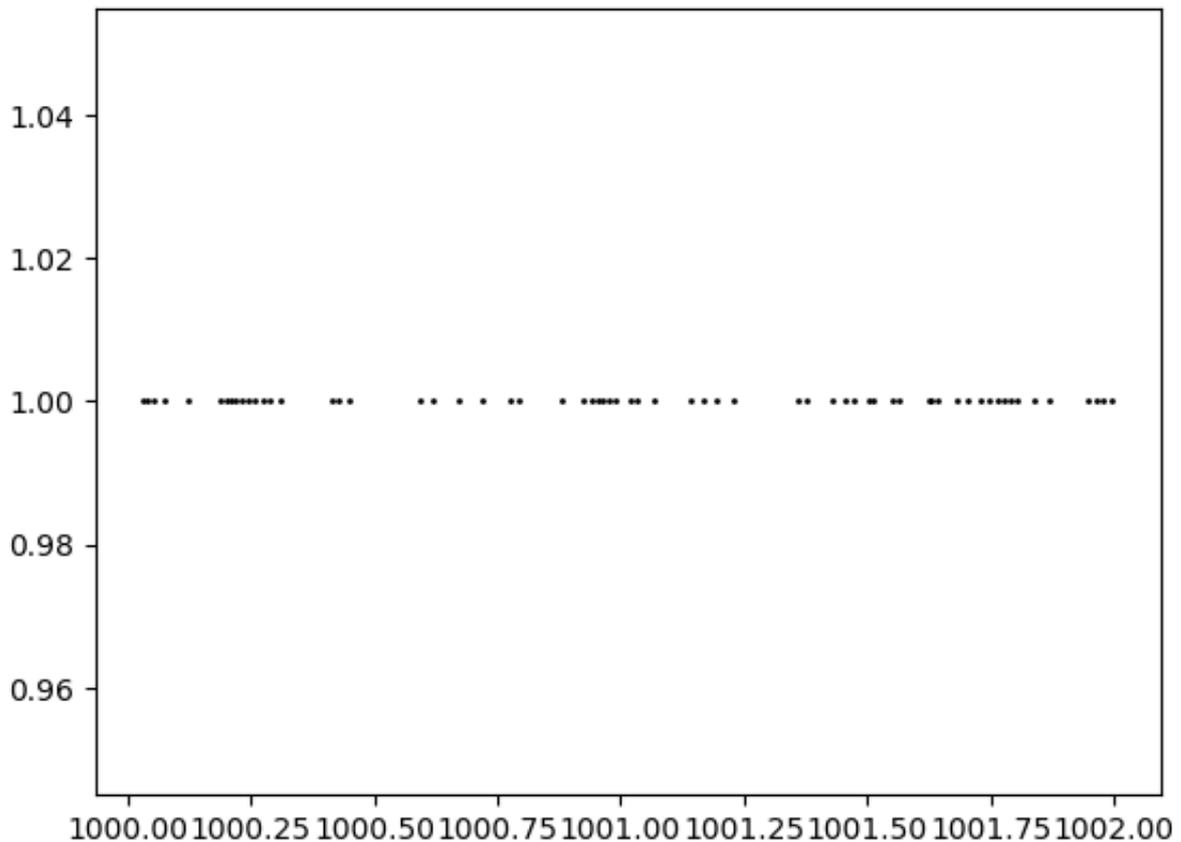


Fonte: Elaborado pela autora

1002 milissegundos, já a questão P6 mostra o rasterplot de todos os neurônios da população da questão anterior com intervalo de tempo maior, neste caso, entre 1000 e 1010 unidades de tempo, correspondendo a milissegundos. As Figuras 54 e 55 são referentes a P6, sendo a rasterplot e código respectivamente. Esse código não organiza os neurônios de acordo com a ordem de disparos, apenas organiza de acordo com a forma como eles vieram da população de neurônios, ou seja, uma sequência. Será criado um arquivo PDF de nome `raster.pdf` com a imagem do rasterplot gerado, isso é feito pela linha de código `plt.savefig('raster.pdf')`, caso não se deseje esse PDF da imagem, basta remover essa linha de código.

Para a sétima questão P7 os dados dos neurônios anteriores foram ordenados de baixo para cima em ordem crescente do número de disparos, ou seja, o neurônio que menos dispara está representado na linha inferior e o que mais dispara está representado na linha superior, essa é uma forma que melhora a visualização da distribuição dos disparos de uma população de neurônios. As Figuras 56 e 57 são referentes a P7.

Figura 52 – P5: Aproveitando o exemplo anterior, apresente o raster plot do neurônio 1053044447 no intervalo [1000,1002]s



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 53 – Código. P5: Aproveitando o exemplo anterior, apresente o raster plot do neurônio 1053044447 no intervalo [1000,1002]

```

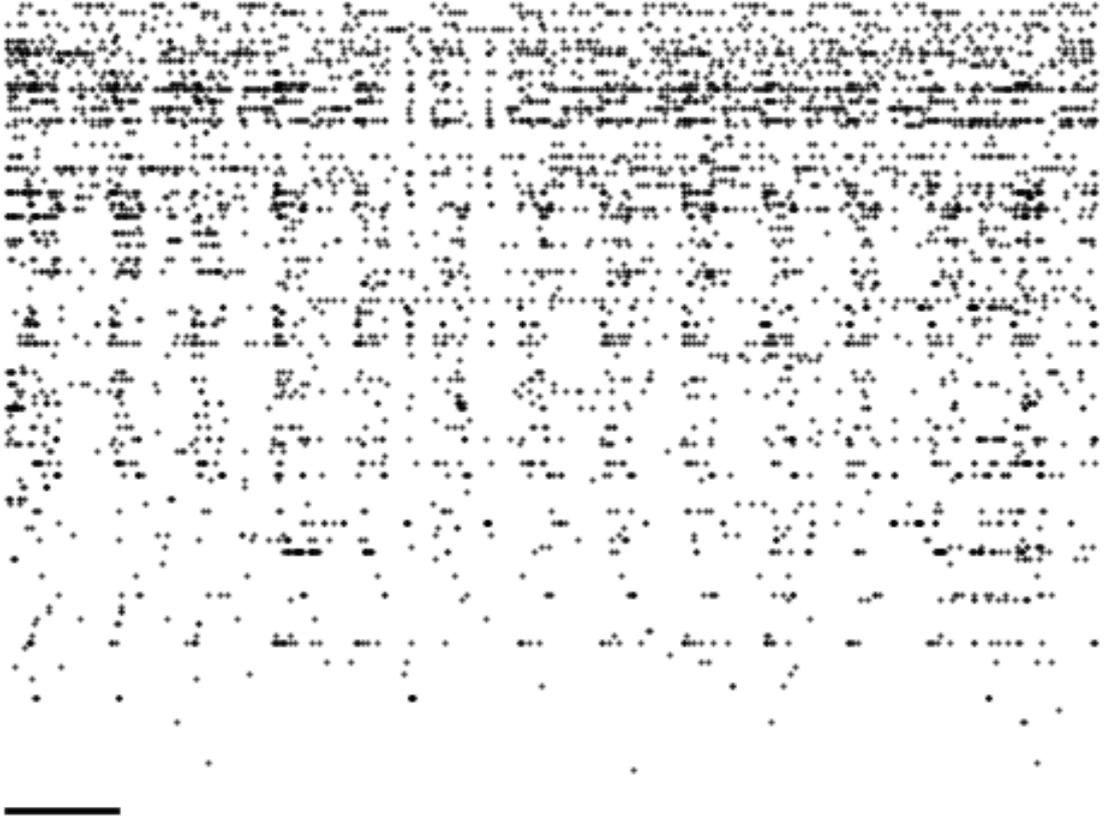
✓ 0s ▶ spk_neuron=spikes[spikes==1053044447]
      a=1000
      b=1002
      X=spk_neuron.loc[a:b].index
      Y=[1]*len(X)
      plt.plot(X,Y,'.k', ms=2)

```

Fonte: Elaborado pela autora

O código da P7 é maior que o da P6, porque foram implementada novas características no código para ordenar pela taxa de disparo e o tamanho da bolinha (ponto) que representa um spike passou a ser menor para comportar todos os neurônios em uma figura que não ficasse tão grande, isso é perceptível pelo código `plt.plot(X,Y, '.k', ms=1)`, em que no código anterior o intervalo era `ms=2`, essa é a variável responsável pela largura do pontinho que representa o spike ao longo do tempo. O usuário pode alterar para valores maiores como 10 e verificar como fica a representação, porém para o caso desses dados não é ideal, porque

Figura 54 – P6: Aproveitando a rotina implementada, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s



Fonte: Elaborado pela autora

os pontos ficarão muito grandes e vão se sobrepor, tornando-se difícil a leitura e interpretação da imagem.

`neuron_ids=firing_rate.sort_values(ascending=False).index` essa linha de código define que os dados serão ordenados em ordem ascendente, ou seja, de baixo para cima, do menor para o maior.

A Figura 58 apresenta o QR Code para acesso ao quatro cadernos produzidos.

Figura 55 – Código. P6: Aproveitando a rotina implementada, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s

```

✓ 4s ▶ a=1000
      b=1010
      neuron_ids=spikes.unique()

      y=len(neuron_ids)
      for neuron_id in neuron_ids:
          X=get_neuron_spikes (spikes=spikes, neuron_id=neuron_id, a=a, b=b)
          Y=[y]*len(X)
          plt.plot (X,Y, '.k', ms=1)
          y-=1

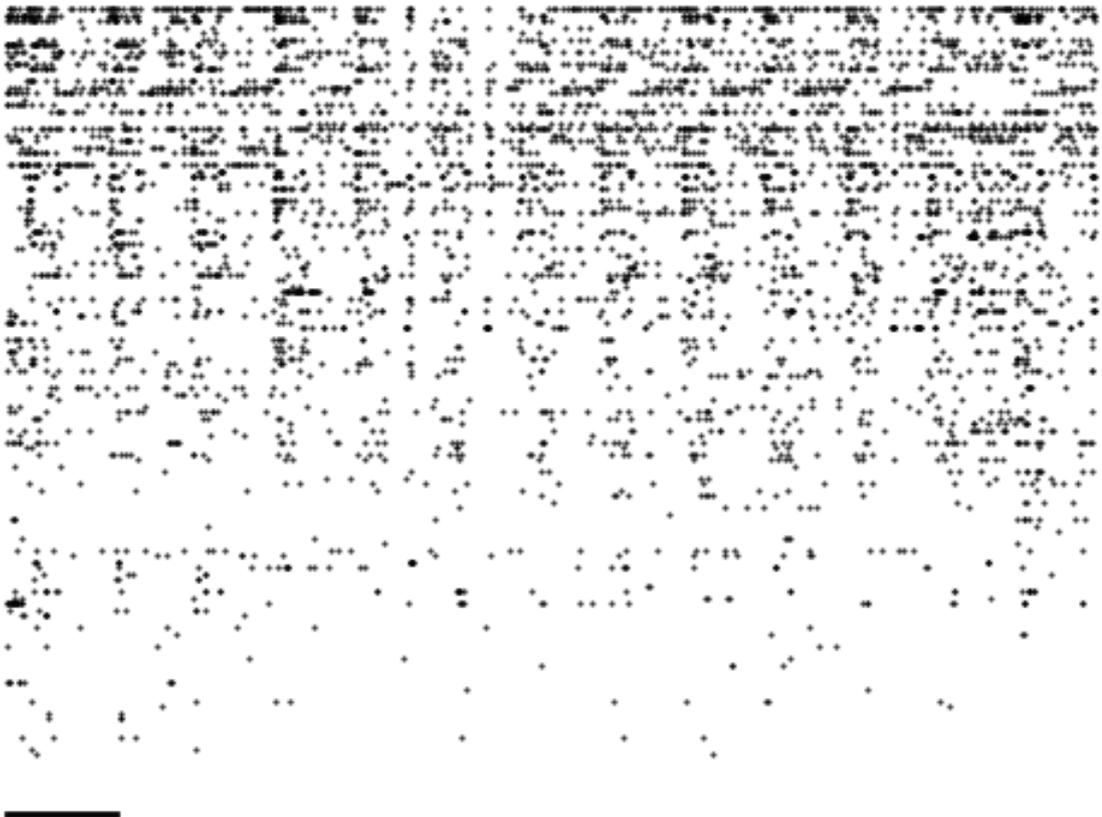
      # Plot a barra horizontal equivalente a 1 segundo de duração.
      plt.plot ([a,a+1],[y-2,y-2], '-k', ms=0.2,lw=2)

      #plt.title ('Raster plot de toda população no intervalo [%d,%d]s' % (a,b))
      plt.axis('off')
      plt.savefig('raster.pdf')

```

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 56 – P7: Aproveitando as rotinas implementadas, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1002]s, ordenado pela taxa de disparo.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 57 – Código. P7: Aproveitando as rotina implementadas, apresente o raster plot de todos os neurônios nesta população no intervalo [1000,1010]s, ordenado pela taxa de disparo.

```

✓ [41] a=1000
3s    b=1010
      neuron_ids=firing_rate.sort_values(ascending=False).index

      y=len(neuron_ids)
      for neuron_id in neuron_ids:
          X=get_neuron_spikes (spikes=spikes, neuron_id=neuron_id, a=a, b=b)
          Y=[y]*len(X)
          plt.plot (X,Y, '.k', ms=1)
          y-=1

      # Plot a barra horizontal equivalente a 1 segundo de duração.
      plt.plot ([a,a+1],[y-2,y-2], '-k', ms=0.2,lw=2)

      #plt.title ('Raster plot de toda população no intervalo [%d,%d]s' % (a,b))
      plt.axis('off')
      plt.savefig('raster.pdf')

```

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 58 – QR Code dos cadernos gerados



Fonte: Elaborado pela autora

## 5 CONCLUSÃO

Levando-se em consideração que a Engenharia Biomédica envolve um trabalho de integração de múltiplas áreas como das ciências exatas e da saúde. Conforme exposto nesse trabalho, foram criados quatro cadernos com demonstrações de como acessar os dados eletrofisiológicos do Instituto Allen em experimentos de comportamento visual realizados em camundongos. Os cadernos tinham o objetivo de apresentar os conhecimentos de forma gradual, sendo os cadernos iniciais com abordagens mais simples sobre o dados e aumentando a quantidade de códigos e filtragem ao longo dos cadernos posteriores.

Conclui-se que é possível desenvolver um material didático de ensino na área de neurociência com meios e tecnologias acessíveis e gratuitos, na forma de cadernos virtuais que utilizam programação em *Python*, buscando ampliar e aplicar o conhecimento do estudante nas áreas de anatomia, biofísica, fisiologia, estatística e programação, tentando desenvolver o conhecimento de forma gradativa e por etapas, utilizando-se de dados de experimentos feitos por pesquisadores como os do Instituto Allen que trabalham com a ciência aberta, uma forma de aumentar a eficiência da aplicação dos recursos inicialmente empregados nessas pesquisas e permitir que novas descobertas sejam feitas com base estudo do cérebro que parece ser uma área com um amplo campo a ser estudado e quanto mais pessoas formadas e treinadas para esse trabalho, mais rápidos os resultados podem ser alcançados, melhorando o entendimento desse importante órgão e seu sistema.

## REFERÊNCIAS

- BARNETT, M. W.; LARKMAN, P. M. The action potential. *Practical neurology*, BMJ Publishing Group Ltd, v. 7, n. 3, p. 192, 2007.
- BORGES, M. de C.; CHACHÁ, S. G. F.; QUINTANA, S. M.; FREITAS, L. C. C. de; RODRIGUES, M. d. L. V. Aprendizado baseado em problemas. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v. 47, n. 3, p. 301–307, 2014.
- BRASIL, A. *Em 2021, 82 por cento dos domicílios brasileiros tinham acesso à internet*. 2022. Disponível em: <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2022-06/em-2021-82-dos-domicilios-brasileiros-tinham-acesso-internet#:~:text=Praticamente%2099%25%20dos%20usu%C3%A1rios%20acessam,D%2FE%20disp%C3%94em%20do%20servi%C3%A7o.>> Acesso em: 30 dez. 2023.
- DESTEXHE, A.; BEDARD, C. Local field potential. *Scholarpedia*, v. 8, n. 8, p. 10713, 2013. Revision #137113.
- ESCOBAR, M.-J.; MASSON, G.; VIÉVILLE, T.; KORNPROBST, P. Rate versus synchrony code for human action recognition. 01 2008.
- FGVIA. *Uso de TI no Brasil: País tem mais de dois dispositivos digitais por habitante, revela pesquisa*. 2023. Disponível em: <<https://portal.fgv.br/noticias/uso-ti-brasil-pais-tem-mais-dois-dispositivos-digitais-habitante-revela-pesquisa>>. Acesso em: 30 dez. 2023.
- GOOGLE. *Olá, este é o Colaboratory*. 2024. Disponível em: <<https://colab.research.google.com/notebooks/welcome.ipynb?hl=pt-BR>>. Acesso em: 08 fev. 2024.
- HALL, J. E.; HALL, M. E. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. [S.l.]: Elsevier Health Sciences, 2020.
- HAWRYLYCZ, M.; NG, L.; FENG, D.; SUNKIN, S.; SZAFER, A.; DANG, C. The allen brain atlas. *Springer Handbook of Bio-/Neuroinformatics*, Springer, p. 1111–1126, 2014.
- HUBEL, D. H. Tungsten microelectrode for recording from single units. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 125, n. 3247, p. 549–550, 1957.
- INSTITUTE, A. *Allen Brain Observatory*. 2019. Disponível em: <[https://brainmapportal-live-4cc80a57cd6e400d854-f7fdcae.divio-media.net/filer\\_public/80/75/8075a100-ca64-429a-b39a-569121b612b2/neuropixels\\_visual\\_coding\\_-\\_white\\_paper\\_v10.pdf](https://brainmapportal-live-4cc80a57cd6e400d854-f7fdcae.divio-media.net/filer_public/80/75/8075a100-ca64-429a-b39a-569121b612b2/neuropixels_visual_coding_-_white_paper_v10.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2023.
- INSTITUTE, A. *Allen Brain Atlas*. 2024. Disponível em: <<https://mouse.brain-map.org/>>. Acesso em: 30 dez. 2023.
- INSTITUTE, A. *Allen Brain Explorer*. 2024. Disponível em: <<https://connectivity.brain-map.org/3d-viewer?v=1>>. Acesso em: 14 fev. 2024.
- INSTITUTE, A. *Allen Brain Reference Atlases*. 2024. Disponível em: <<https://atlas.brain-map.org>>. Acesso em: 02 jan. 2024.

- INTERNATIONAL, . B. A. D. *Dementia in the Americas: Current and future cost and prevalence of Alzheimer's disease and other dementias*. [S.l.]: Bupa & Alzheimer's Disease International London, 2013.
- JONES, A. R.; OVERLY, C. C.; SUNKIN, S. M. The allen brain atlas: 5 years and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, Nature Publishing Group UK London, v. 10, n. 11, p. 821–828, 2009.
- JUN, J. J.; STEINMETZ, N. A.; SIEGLE, J. H.; DENMAN, D. J.; BAUZA, M.; BARBARITS, B.; LEE, A. K.; ANASTASSIOU, C. A.; ANDREI, A.; AYDIN, Ç.; BARBIC, M.; BLANCHE, T. J.; BONIN, V.; COUTO, J.; DUTTA, B.; GRATIY, S. L.; GUTNISKY, D. A.; HÄUSSER, M.; KARSH, B.; LEDOCHOWITSCH, P.; LOPEZ, C. M.; MITELUT, C.; MUSA, S.; OKUN, M.; PACHITARIU, M.; PUTZEYS, J.; RICH, P. D.; ROSSANT, C.; SUN, W.-L.; SVOBODA, K.; CARANDINI, M.; HARRIS, K. D.; KOCH, C.; O'KEEFE, J.; HARRIS, T. D. Fully integrated silicon probes for high-density recording of neural activity. *Nature*, nature.com, v. 551, n. 7679, p. 232–236, nov. 2017.
- KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.; JESSELL, T.; SIEGELBAUM, S.; HUDSPETH, A. *Princípios de neurociências-5*. [S.l.]: AMGH Editora, 2014.
- KANDEL, E. R.; KOESTER, J. D.; MACK, S. H.; SIEGELBAUM, S. *Principles of neural science*. [S.l.]: McGraw-Hill, 2021.
- KANDEL, E. R.; MARKRAM, H.; MATTHEWS, P. M.; YUSTE, R.; KOCH, C. Neuroscience thinks big (and collaboratively). *Nature Reviews Neuroscience*, Nature Publishing Group UK London, v. 14, n. 9, p. 659–664, 2013.
- LEWICKI, M. S. A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network: Computation in Neural Systems*, IOP Publishing, v. 9, n. 4, p. R53, 1998.
- MACHADO, A.; HAERTEL, L. M. *Neuroanatomia funcional*. [S.l.]: Atheneu, 2013.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. [S.l.]: Elsevier, 2005.
- QUIROGA, R. Q. Spike sorting. *Current Biology*, Elsevier, v. 22, n. 2, p. R45–R46, 2012.
- REY, H. G.; PEDREIRA, C.; QUIROGA, R. Q. Past, present and future of spike sorting techniques. *Brain research bulletin*, Elsevier, v. 119, p. 106–117, 2015.
- ROSAL, I. *ViolinPlot: uma arma poderosa e elegante para análise de dados*. 2021. Disponível em: <<https://medium.com/data-hackers/violinplot-uma-arma-poderosa-e-elegante-para-análise-de-dados-e83ba72da801>>. Acesso em: 22 fev. 2024.
- ROSSANT, C.; KADIR, S. N.; GOODMAN, D. F.; SCHULMAN, J.; HUNTER, M. L.; SALEEM, A. B.; GROSMARK, A.; BELLUSCIO, M.; DENFIELD, G. H.; ECKER, A. S. et al. Spike sorting for large, dense electrode arrays. *Nature neuroscience*, Nature Publishing Group US New York, v. 19, n. 4, p. 634–641, 2016.

- 
- SIERVI, C. *Como usar o diagrama Boxplot para descrever uma amostra de dados*. 2019. Disponível em: <<https://medium.com/@claudio.sievi/interpretando-o-diagrama-de-caixa-boxplot-1876b7c099af>>. Acesso em: 07 mar. 2024.
- SILVERTHORN, D. U. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. [S.l.]: Artmed editora, 2017.
- STEVENSON, I. H.; KORDING, K. P. How advances in neural recording affect data analysis. *Nat. Neurosci.*, v. 14, n. 2, p. 139–142, fev. 2011.
- UFSM. *3 tipos de roedores usados em pesquisas na UFSM*. 2022. Disponível em: <<https://ufsm.br/r-601-9275>>. Acesso em: 15 fev. 2024.
- YIZHAR, O.; FENNO, L. E.; DAVIDSON, T. J.; MOGRI, M.; DEISSEROTH, K. Optogenetics in neural systems. *Neuron*, Elsevier, v. 71, n. 1, p. 9–34, 2011.
- ZILLES, K.; AMUNTS, K. Centenary of brodmann’s map—conception and fate. *Nature Reviews Neuroscience*, Nature Publishing Group UK London, v. 11, n. 2, p. 139–145, 2010.