



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS (CTG)

MARIA AMANDA PÉREZ DE OLIVEIRA

**Codificação de Recompensa no Mesencéfalo.**

Recife

2025

MARIA AMANDA PÉREZ DE OLIVEIRA

### **Codificação de Recompensa no Mesencéfalo.**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Biomédica, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Biomédica, Centro de Tecnologia e Geociências da Universidade Federal de Pernambuco.

**Orientador:**

Dr. Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos, Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco

**Banca:**

Dra. Carina Soares Cunha, Escola de Medicina, Universidade do Minho

Dr. Leandro Alvaro Alcantara Aguiar, Escola de Medicina, Universidade do Minho

Dr. Mauro Copelli Lopes da Silva, Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco

Recife

2025

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

Oliveira, Maria Amanda Pérez de.

Codificação de recompensa no mesencéfalo / Maria Amanda Pérez de  
Oliveira. - Recife, 2024.

70 p. : il., tab.

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, anexos.

1. Codificação Neural. 2. Motivação e Recompensa. 3. Mesencéfalo. 4. Taxa  
de disparo. 5. PSTH. 6. Neuropixels. 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

Nome do(a) estudante	MARIA AMANDA PÉREZ DE OLIVEIRA
Orientador(a)	Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos
Título do Trabalho	Codificação de Recompensa no Mesencéfalo
Data da Defesa	19/12/2024
Membros da Banca Examinadora	<b>Dra. Carina Soares Cunha, Escola de Medicina, Escola de Medicina/Universidade do Minho</b>
	<b>Dr. Leandro Alvaro Alcantara Aguiar, Escola de Medicina/Universidade do Minho</b>
	<b>Dr. Mauro Copelli Lopes da Silva, Depto de Física/Universidade Federal de Pernambuco</b>

Parecer e Nota
A estudante escreveu um texto fluido e claro, e teve uma boa desenvoltura em sua apresentação e arguição. Recebe nota final 10 (dez).

Assinaturas dos Membros da Banca Examinadora	
	Assinado por: <b>CARINA ISABEL SOARES DA CUNHA</b> Num. de Identificação: 13559020 Data: 2024.12.19 18:33:23 +0000
	Assinado por: <b>LEANDRO ALVARO DE ALCANTARA AGUIAR</b> Num. de Identificação: 18048129 Data: 2024.12.19 18:40:12 +00'00'
	Documento assinado digitalmente  <b>MAURO COPELLI LOPES DA SILVA</b> Data: 19/12/2024 16:54:20-0300 Verifique em <a href="https://validar.iti.gov.br">https://validar.iti.gov.br</a>

## **Agradecimentos**

*Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que me apoiaram e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e da minha graduação.*

*Ao Professor Dr. Nivaldo Antônio Portela de Vasconcelos, pela orientação, paciência e dedicação ao longo de toda a minha jornada acadêmica, que foram fundamentais para o desenvolvimento não só deste projeto mas também da minha maturidade profissional e pessoal.*

*Ao Professor Dr. Mauro Copelli Lopes da Silva, pelos ensinamentos, oportunidades e confiança, e pelos próximos anos como orientador de mestrado, será uma honra imensurável.*

*A todos os amigos, colegas de curso e profissionais que contribuíram para o sucesso desta jornada, especialmente aos meus amigos Lucas Anjos, Diego Canejo, João Veras e Filipe Torres, e ao setor de Engenharia Clínica do Hospital das Clínicas/UFPE, especificamente a Leonardo, Lorena, Karoline e Brenna.*

*A meu parceiro, Felipe, pela compreensão, pelo carinho e por estar ao meu lado em cada etapa, compartilhando os momentos de dificuldade e de alegria. Você é o grande responsável por tornar tudo mais leve nesses últimos 2 anos e meio.*

*E, por fim, aos meus queridos familiares: a meu pai, Carlos Eduardo, que sempre me deu oportunidades, trabalhando para prover educação da melhor qualidade possível; a minha irmã, Dra. Maria Eduarda Pérez-de-Oliveira, o meu exemplo a ser seguido de trabalho duro e honestidade; e a minha mãe, Fernanda, quem me transmitiu valores, amor e sempre cuidou de mim.*

## RESUMO

Este trabalho explora os padrões de codificação de recompensa no mesencéfalo, a partir da análise dos dados provenientes do Projeto Visual Behavior Neuropixels. O experimento realizado no projeto consiste essencialmente em uma tarefa de detecção de mudança de imagens, com e sem recompensa, em camundongos, realizando o registro da atividade neural em córtex, hipocampo, mesencéfalo e tálamo através de neuropixels. O mesencéfalo é estudado em detalhes neste estudo, desejando-se explorar outras subáreas do Mesencéfalo além dos circuitos dopaminérgicos da Área Tegmental Ventral, cujo papel desta no sistema de recompensa já está bem estabelecido na literatura, mediando processos como motivação e aprendizado. A análise dos dados conta com diversas ferramentas metodológicas, tais quais obtenção de medidas de tendência central e de dispersão, caracterização de distribuição das taxas médias de disparo neuronal, análise dos padrões de atividade por meio de histogramas de tempos peri-estímulo (PSTH), testes estatísticos (Shapiro-Wilk e Mann-Whitney) e cálculo de correlações de Pearson. A partir destas metodologias empregadas, foi possível examinar a influência de fatores como o sexo do animal e a presença ou não de recompensa, além de possibilitar a diferenciação do mesencéfalo com as outras regiões do encéfalo disponíveis no estudo e entre as subáreas do mesencéfalo. Os resultados mostram que a taxa média de disparo dos neurônios do mesencéfalo possuem distribuição com maior variabilidade que as demais, e que os padrões de disparo nas unidades do mesencéfalo são compatíveis com uma resposta à recompensa, principalmente com o aumento na taxa de disparo dos neurônios antes do evento da recompensa. Além disso, verifica-se um destaque para o Núcleo Pré-tal Anterior, subárea do Mesencéfalo com distribuição maior que as demais e com uma taxa média de disparo maior no bloco de atividade passiva do experimento (sem recompensa), fato intrigante que merece investigação futura.

**Palavras-chave:** Codificação Neural. Motivação e Recompensa. Mesencéfalo. Taxa de disparo. PSTH. Neuropixels.

## ABSTRACT

This study explores reward encoding patterns in the midbrain through the analysis of data from the Visual Behavior Neuropixels Project. The experiment conducted in the project essentially involves an image change detection task, with and without reward, in mice, recording neural activity in the cortex, hippocampus, midbrain, and thalamus using Neuropixels probes. The midbrain is studied in detail in this work, driven by the motivation to explore subareas of the midbrain beyond the dopaminergic circuits of the Ventral Tegmental Area, whose role in the reward system is well established in the literature, mediating processes such as motivation and learning. Data analysis employs various methodological tools, including measures of central tendency and dispersion, characterization of the distribution of average neuronal firing rates, analysis of activity patterns through peri-stimulus time histograms (PSTH), statistical tests (Shapiro-Wilk and Mann-Whitney), and Pearson correlation calculations. Through these methodologies, it was possible to examine the influence of factors such as the animal's sex and the presence or absence of reward, as well as to differentiate the midbrain from other brain regions available in the study and between the subareas of the midbrain. The results show that the average firing rate of midbrain neurons exhibits greater variability than other regions and that firing patterns in midbrain units align with a reward response, particularly with an increase in firing rates prior to the reward event. Additionally, the Anterior Pretectal Nucleus, a midbrain subarea, stands out due to its higher distribution variability compared to others and its higher average firing rate during the passive activity block of the experiment (without reward). This intriguing finding warrants further investigation.

**Keywords:** Neural coding. Motivation and Reward. Midbrain. Firing rate. PSTH. Neuropixels.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Seção mediana do Sistema Nervoso Central. . . . .	18
Figura 2 – Seção transversal do Mesencéfalo. . . . .	20
Figura 3 – Vista posterior do mesencéfalo e outras estruturas, com ênfase nos colículos superiores e inferiores. . . . .	21
Figura 4 – Aparato clássico para experimentos de autoestimulação . . . . .	24
Figura 5 – Circuitos de recompensa do Encéfalo . . . . .	25
Figura 6 – Os neurônios dopaminérgicos reportam erro na previsão de recompensa . . . . .	26
Figura 7 – Métodos de Registro de Eventos Extracelulares da Atividade Neuronal . . . . .	30
Figura 8 – Configuração de Eletrodos para Implantes Crônicos Multinível . . . . .	32
Figura 9 – Integração de Configurações de Registro e Comportamento . . . . .	33
Figura 10 – Registros Multiníveis em Animais em Comportamento . . . . .	34
Figura 11 – A qualidade do isolamento das unidades varia em função da distância do eletrodo . . . . .	35
Figura 12 – Registro de Alta Densidade da Atividade de Unidades na Área Somatossensorial do Córtex de Rato . . . . .	36
Figura 13 – A sonda Neuropixels . . . . .	37
Figura 14 – A gravação de grandes populações neuronais com uma única sonda fixada na cabeça de um camundongo. . . . .	38
Figura 15 – Etapas de processamento de dados. . . . .	40
Figura 16 – Tarefa de detecção de mudanças. . . . .	43
Figura 17 – Design Experimental. . . . .	45
Figura 18 – Metodologia de obtenção do PSTH . . . . .	48
Figura 19 – Distribuição das taxas de disparo dos neurônios do córtex, hipocampo, mesencéfalo e tálamo. . . . .	51
Figura 20 – Distribuição de taxa de disparo ao longo do mesencéfalo . . . . .	52
Figura 21 – Distribuição de taxas de disparo ao longo das áreas mesencéfalo por sexo . . . . .	53
Figura 22 – Distribuição de taxas de disparo ao longo do mesencéfalo durante a tarefa, com e sem recompensa . . . . .	55
Figura 23 – PSTH de neurônios de maior correlação com as referências de PSTH . . . . .	57
Figura 24 – Distribuições de correlação do PSTH no Mesencéfalo . . . . .	58

Figura 25 – Distribuições de correlação no mesencéfalo durante a atividade espontânea.	61
Figura 26 – Painel do PSTH dos neurônios do APN . . . . .	63
Figura 27 – Painel do PSTH dos neurônios do MB . . . . .	64
Figura 28 – Painel do PSTH dos neurônios do Mesencéfalo . . . . .	65
Figura 29 – Painel do PSTH dos neurônios do MRN . . . . .	66
Figura 30 – Painel do PSTH dos neurônios do SCig . . . . .	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição do fluxo de trabalho do Allen Observatory Neuropixel. (SCIENCE, 2023) . . . . .	42
Tabela 2 – Descrição dos Blocos . . . . .	44
Tabela 3 – Número de sessões para cada condição conforme retornado por padrão pelo SDK (sem anormalidades). (SCIENCE, 2023) . . . . .	46
Tabela 4 – Número de unidades do mesencéfalo por área e por sexo. . . . .	46
Tabela 5 – Interpretação do Coeficiente de Pearson. . . . .	48
Tabela 6 – Grupos de unidades com maiores correlações positivas utilizados na análise de correlação na atividade espontânea. . . . .	59

## LISTA DE SÍMBOLOS

AP	Potencial de Ação
APN	Núcleo Pré-tetal Anterior
ECoG	Eletrocorticograma
EEG	Eletroencefalograma
GD	Giro Dentado do Hipocampo
LP	Núcleo Posterior Lateral do Tálamo
LFP	Potencial de Campo Local
MB	Conjunto de Células Inespecíficas do Mesencéfalo
ME	Mesencéfalo
MNAP	Processador de Aquisição de Muitos Neurônios
MPN	Núcleo Pré-tetal Medial
MRN	Núcleo Reticular do Mesencéfalo
NWB	<i>Neurodata Without Borders</i>
NOT	Núcleo do Trato Óptico
PON	Núcleo Pré-tetal Olivar
PPT	Núcleo Pré-tetal Posterior
PrV	Núcleo Principal do Complexo Trigeminal do Tronco Encefálico
PSTH	Histograma de Tempos Peri-Estímulo
SCig	Camada Cinzenta Intermediária do Colículo Superior, Lâmina IV
SCiw	Camada Branca Intermediária do Colículo Superior, Lâmina V
SI	Córtex Somatossensorial Primário
SNC	Sistema Nervoso Central

SNP	Sistema Nervoso Periférico
SpV	Núcleo Espinal do Complexo Trigeminal do Tronco Encefálico
V1	Córtex Visual Primário
Vg	Núcleo do Gânglio Trigeminal
VPM	Núcleo Ventral Póster-Medial do Tálamo
VTA	Área Tegmental Ventral

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
1.1	FORMAÇÃO DE GRADUAÇÃO RELACIONADA	13
1.2	OBJETIVOS	14
1.2.1	<b>Objetivo Geral</b>	<b>14</b>
1.2.2	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>15</b>
1.3	ESTRUTURA DO TEXTO	15
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>16</b>
2.1	INTRODUÇÃO AO SISTEMA NERVOSO	16
2.1.1	<b>Estrutura Anatômica</b>	<b>17</b>
2.1.2	<b>Circuitos Neurais e Comportamento</b>	<b>17</b>
2.2	O MESENCÉFALO	20
2.2.1	<b>Colículo Superior</b>	<b>21</b>
2.2.2	<b>Área Pré-tetal</b>	<b>22</b>
2.2.3	<b>Formação Reticular</b>	<b>22</b>
2.3	MOTIVAÇÃO E RECOMPENSA	22
2.3.1	<b>Estado Motivacional</b>	<b>23</b>
2.3.2	<b>Recompensa</b>	<b>23</b>
2.3.3	<b>O papel da Dopamina</b>	<b>25</b>
2.4	SINAIS DO SISTEMA NERVOSO	27
2.4.1	<b>Origem do Campo Elétrico Extracelular</b>	<b>28</b>
2.4.2	<b>Métodos de Gravação de Eventos Extracelulares da Atividade Neuronal</b>	<b>29</b>
2.5	EVOLUÇÃO RECENTE DO REGISTRO SIMULTÂNEO DE GRANDES POPULAÇÕES DE NEURÔNIOS	31
2.5.1	<b>Matrizes de multieletrodos</b>	<b>31</b>
2.5.2	<b>Sondas montadas em silício</b>	<b>34</b>
2.5.3	<b>Neuropixels</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>41</b>
3.1	DESCRIÇÃO GERAL DOS EXPERIMENTOS	41
3.1.1	<b>O projeto Visual Behavior Neuropixels</b>	<b>41</b>

<b>3.1.2</b>	<b>O experimento</b>	<b>42</b>
3.2	VISÃO GERAL DOS DADOS	46
3.3	METODOLOGIA DA ANÁLISE DOS DADOS	47
<b>3.3.1</b>	<b>PSTH</b>	<b>47</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Coefficiente de correlação de Pearson</b>	<b>47</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Testes de hipótese</b>	<b>48</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>50</b>
4.1	DISTRIBUIÇÃO DAS TAXAS DE DISPARO NO ENCÉFALO	50
4.2	DISTRIBUIÇÃO DAS TAXAS DE DISPARO NO MESENCÉFALO	51
4.3	DISTRIBUIÇÃO DA CORRELAÇÃO DO PSTH NO MESENCÉFALO	55
4.4	ESTRUTURA DE CORRELAÇÃO NA ATIVIDADE ESPONTÂNEA	59
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>62</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>62</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O sistema nervoso é uma das estruturas mais complexas e fascinantes do corpo humano, responsável por regular funções vitais, comportamentais e cognitivas. Ele permite a interação entre o organismo e o ambiente, processando estímulos sensoriais e transformando-os em respostas que garantem a sobrevivência e a adaptação do indivíduo. Apesar do vasto progresso na neurociência, muitas questões sobre o funcionamento do sistema nervoso central e periférico permanecem em aberto, principalmente no que diz respeito à forma como informações são codificadas e interpretadas pelos circuitos neurais (KANDEL et al., 2021).

A codificação neural é o processo pelo qual as características de um estímulo sensorial são representadas pela atividade neural através de padrões de disparos elétricos. Ou seja, o estudo da codificação neural busca compreender como os padrões de disparo dos neurônios refletem informações sensoriais, motoras e cognitivas. Essa abordagem é fundamental para o avanço de tecnologias como neuropróteses e interfaces cérebro-máquina, além de oferecer novos caminhos para o tratamento de distúrbios neurológicos e psiquiátricos. Segundo Kandel et al. (2021), a codificação neural é um processo intrincado que envolve a interação de sinais elétricos e químicos em escalas temporais e espaciais diversas, sendo um tema central na neurociência contemporânea (KANDEL et al., 2021).

O estudo da codificação de recompensa no mesencéfalo, foco deste trabalho, é particularmente relevante devido ao papel central dessa região na regulação de comportamentos motivados. No mesencéfalo, destaca-se a área tegmental ventral (VTA), uma estrutura chave para a modulação dopaminérgica dos circuitos de recompensa. A VTA contém neurônios dopaminérgicos que projetam para diversas regiões, tais quais o núcleo accumbens, o córtex pré-frontal, o hipocampo e a amígdala, formando circuitos essenciais para o aprendizado baseado em recompensa, a motivação e a tomada de decisão (SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997). Este trabalho se propõe a estudar outras estruturas do mesencéfalo além do VTA, afim de investigar outros possíveis circuitos envolvidos na codificação de recompensa.

A dopamina, principal neurotransmissor liberado pelos neurônios da VTA, é crucial para o processamento de estímulos recompensadores. Estudos clássicos de Schultz et al. (1997) mostraram que a atividade desses neurônios é modulada de acordo com o erro de previsão de recompensa, isto é, o desvio entre a recompensa esperada e a real. Quando uma recompensa inesperada ocorre, os neurônios dopaminérgicos exibem um aumento na sua atividade;

em contraste, quando uma recompensa esperada não é entregue, há uma redução no disparo. Esse mecanismo fornece uma base para ajustar comportamentos e otimizar a busca por recompensas futuras, representado uma aparalagem complexa. Por isso, a percepção de padrões de disparos incomuns em outras áreas do mesencéfalo pode ser capaz de identificar outros circuitos envolvidos de formas ainda não conhecidas na codificação de recompensa.

Os avanços recentes na tecnologia de registro neural, como as sondas Neuropixels, têm possibilitado uma análise mais detalhada de regiões cada vez mais específicas do sistema nervoso. Essas sondas permitem o registro simultâneo de grandes populações de neurônios em múltiplas regiões cerebrais com alta resolução espacial e temporal (JUN et al., 2017). A aplicação dessas ferramentas ao estudo do sistema de recompensa oferece a oportunidade de mapear, com maior precisão, os padrões de disparo neuronal relacionados a estímulos recompensadores e sua relação com estados motivacionais. O projeto Visual Behavior Neuropixels utiliza sondas neuropixels na aquisição dos sinais, o que viabiliza o propósito do trabalho de analisar de forma mais aprofundada a codificação de recompensa em subestruturas anatômicas do mesencéfalo.

Disfunções nos circuitos de recompensa estão associadas a transtornos como vício, depressão e doença de Parkinson (GOLDSTEIN; VOLKOW, 2011; PILGRIM; OU; SHARP, 2021; RUSSO; NESTLER, 2013). A compreensão detalhada do papel do mesencéfalo na codificação de recompensa pode, portanto, contribuir para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas, melhorando a qualidade de vida de milhões de pessoas. Por esta razão, este trabalho se propõe a aprofundar o estudo da codificação de recompensa do mesencéfalo, à procura de padrões de disparo neuronais associados à recompensa no mesencéfalo a partir de dados experimentais do projeto Visual Behavior Neuropixels, que se utiliza de um tecnologia de registro de atividade neuronal de última geração, os neuropixels.

## 1.1 FORMAÇÃO DE GRADUAÇÃO RELACIONADA

Antes da graduação de Engenharia Biomédica, cursei aproximadamente metade do curso de Medicina. Durante este período, pude construir maturidade sob o ponto de vista das Ciências da Saúde, com foco em Psiquiatria, visto que participei da Liga Acadêmica de Psiquiatria da Universidade de Pernambuco. Após essa profunda experiência na área médica, decidi cursar Engenharia Biomédica pela Universidade Federal de Pernambuco, cujo ciclo básico contém duas importantes disciplinas da área da saúde, AN203 - ANATOMIA 5 e FF242 - FISILOGIA HUMANA, responsáveis por sedimentar o alicerce previamente construído na graduação em

Medicina. Para este trabalho, foi de grande importância estar familiarizada com neuroanatomia e neurofisiologia, de modo a entender os resultados e a importância do trabalho com maior facilidade.

Além disso, outras duas disciplinas do ciclo básico que apoiaram o desenvolvimento deste trabalho são IF165 - COMPUTAÇÃO ELETRÔNICA e ET625 - ESTATÍSTICA 1, ao fornecer o desenvolvimento de habilidades de programação e de conhecimentos em Estatística, essenciais para a obtenção e interpretação dos resultados.

No ciclo profissional, cursei a disciplina IN429 - EQUIPAMENTOS MEDICO HOSPITALARES 1, uma matéria voltada a estudar instrumentação biomédica, ou seja, com ênfase na aquisição e tratamento de sinais bioelétricos, além de estudar a natureza destes. É crucial conhecer esta área, que dá dimensão ao sinal com o qual a pesquisa se propôs trabalhar e ao aparato envolvido em sua aquisição.

De forma mais aprofundada que a matéria supracitada, em BIO0016 - NEUROENGENHARIA, uma disciplina eletiva, foram estudados os sinais do sistema nervoso, além de ter permitido conhecer sobre a evolução do registro simultâneo de populações de neurônios, tópicos importantes do trabalho. Nesta disciplina, também pude desenvolver projetos, apresentar seminários e conhecer técnicas computacionais de tratamento de dados, sempre na área da Neuroengenharia.

Por último, devo destacar a importância do meu envolvimento em projetos de iniciação científica tanto na área da estatística quanto na área da física. Ambos me auxiliaram no desenvolvimento de lógica em programação por estar em contato com duas linguagens de programação diferentes, R e Python, sendo esta última a linguagem de escolha deste trabalho de conclusão de curso. Além disso, na iniciação científica em estatística, pude sedimentar o aprendizado de conceitos estatísticos, que serão aplicados aqui.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é analisar os padrões de disparo neuronal associados à recompensa no mesencéfalo, com foco em identificar e interpretar os achados experimentais obtidos na base de dados do projeto Visual Behavior Neuropixels.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

1. Caracterizar a distribuição das taxas de disparo dos neurônios em diferentes sub-regiões do mesencéfalo, em condições com e sem recompensa.
2. Avaliar as diferenças nos padrões de disparo em relação a fatores como sexo e estímulos comportamentais.
3. Quantificar a relação entre a frequência de disparo neuronal e os estímulos recompensadores, identificando correlações significativas nos histogramas de tempos peri-estímulo (PSTH) e em modelos de PSTH pré-concebidos.
4. Interpretar os resultados obtidos à luz dos modelos de codificação de recompensa baseados em erros de previsão, enfatizando o papel funcional dos neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo.

### 1.3 ESTRUTURA DO TEXTO

Este trabalho está dividido em cinco capítulos. No Capítulo 1, apresenta-se uma introdução e motivação ao objeto de estudo, de modo a delinear os objetivos gerais e específicos. O Capítulo 2, por outro lado, é dedicado à fundamentação teórica, onde são discutidos os conceitos centrais do trabalho, incluindo o estudo do sistema nervoso, do mesencéfalo e dos sistemas de recompensa, bem como os sinais mensuráveis do sistema nervoso e uma evolução recente do registro simultâneo de grandes populações de neurônios.

O Capítulo 3 descreve a metodologia adotada, de modo a apresentar o Projeto Visual Behavior Neuropixels, o fluxo de trabalho do experimento, os dados selecionados da base e as ferramentas de análise de dados, incluindo PSTH, coeficiente de correlação de Pearson e testes de hipóteses. Já no capítulo 4 são explorados os resultados obtidos durante o desenvolvimento do projeto, ilustrados por meio de figuras e medidas estatísticas. Por último, no capítulo 5, coloca-se a conclusão deste trabalho, em que se destacam os principais resultados e sua relevância.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Esta fundamentação teórica visa fornecer um arcabouço conceitual para compreender os mecanismos de codificação neural, com ênfase nos circuitos de recompensa do mesencéfalo. Inicialmente, será discutida a anatomia do sistema nervoso e os circuitos neurais responsáveis pelas funções motoras, sensoriais e cognitivas, destacando a interação entre neurônios e células gliais, essenciais para a transmissão de informações. A neuroplasticidade e a codificação neural também serão exploradas, oferecendo uma base para entender a dinâmica das respostas neuronais a estímulos. Em seguida, será detalhada a anatomia do mesencéfalo, incluindo áreas-chave como os colículos superior e inferior, a área pré-tetal e a formação reticular, com ênfase na modulação de comportamentos e no sistema de recompensa.

A seção sobre motivação e recompensa examina o papel da dopamina na regulação do comportamento em busca de recompensas, abordando os estados motivacionais, a tomada de decisão e a diferença entre recompensas de curto e longo prazo. A interação das vias dopaminérgicas com outras regiões cerebrais será discutida, assim como os impactos das lesões no mesencéfalo no comportamento relacionado à recompensa. O capítulo também explora a atividade elétrica no sistema nervoso, detalhando os sinais gerados pela atividade neuronal e os tipos de registros bioelétricos, como EEG, LFP e spikes. Além disso, será abordado o avanço nas tecnologias de registro neural, incluindo matrizes de multieletrodos e dispositivos como o Neuropixels, que permitiram o registro simultâneo de centenas de neurônios e geraram novos desafios para as análises de dados. Os conceitos a serem estudados são de grande importância para a compreensão dos resultados que serão coletados pelo trabalho, de modo que o capítulo contextualiza o leitor a respeito dos principais fundamentos envolvidos na Codificação de Recompensa no Mesencéfalo.

### 2.1 INTRODUÇÃO AO SISTEMA NERVOSO

Nesta seção, será abordado o sistema nervoso, com ênfase em fundamentos essenciais à compreensão da codificação de recompensa no mesencéfalo. A seção permite ao leitor localizar o mesencéfalo anatomicamente no sistema nervoso, ao discutir os diferentes componentes do sistema nervoso central, como o encéfalo e a medula espinhal, e as interações entre as células nervosas, incluindo os neurônios e as células gliais, fundamentais para a transmissão

---

e processamento das informações. Além disso, será abordada a codificação neural, conceito base que representa um importante aspecto deste trabalho.

### **2.1.1 Estrutura Anatômica**

O sistema nervoso humano é uma rede complexa de células e fibras que atua como o centro de controle do corpo, responsável por coordenar e regular as funções vitais, as atividades motoras e sensoriais, e comunicar o organismo com o meio externo. Com base em critérios anatômicos, o sistema nervoso é dividido em sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP). O sistema nervoso periférico tem o papel de comunicação entre o SNC e os órgãos periféricos, sendo formado por nervos, gânglios e terminações nervosas. Por outro lado, o sistema nervoso central é uma estrutura simétrica e bilateral composta por duas principais partes, a medula espinhal e o encéfalo. A medula espinhal é dividida em quatro porções que são listadas, no sentido crânio-caudal: cervical, torácica, lombar e sacral. O encéfalo é subdividido em cérebro, cerebelo e tronco encefálico. O cérebro é composto pelo telencéfalo e pelo diencefalo, e o tronco encefálico, pelo bulbo, pela ponte e pelo mesencéfalo, como ilustrado na Figura 1 (MACHADO, 2020).

### **2.1.2 Circuitos Neurais e Comportamento**

O tecido nervoso é composto por dois tipos celulares: os neurônios e as células gliais. Os neurônios são a unidade fundamental do tecido e possuem as funções de receber, processar e enviar informações. A neurógliia, por outro lado, é um conjunto de células responsáveis pela sustentação, revestimento, modulação da atividade e defesa dos neurônios, preenchendo espaços entre estes. Os neurônios são células excitáveis, que se comunicam entre si ou com células efetadoras (células musculares e secretoras). Os locais dessas comunicações são denominados sinapses e junções neuroefetadoras, respectivamente. A célula neuronal é composta por três principais partes: (i) o corpo celular, que é o centro metabólico do neurônio, onde ocorrem a síntese de proteínas e os processos de degradação e renovação de constituintes celulares; (ii) os dendritos, especializados em receber estímulos e traduzi-los em alterações do potencial de membrana, e (iii) os axônios, que são prolongamentos longos e finos, através dos quais é estabelecida a conexão com neurônios e células efetadoras (MACHADO, 2020).

O recebimento, processamento e envio de informações pelos neurônios se dão pela sua

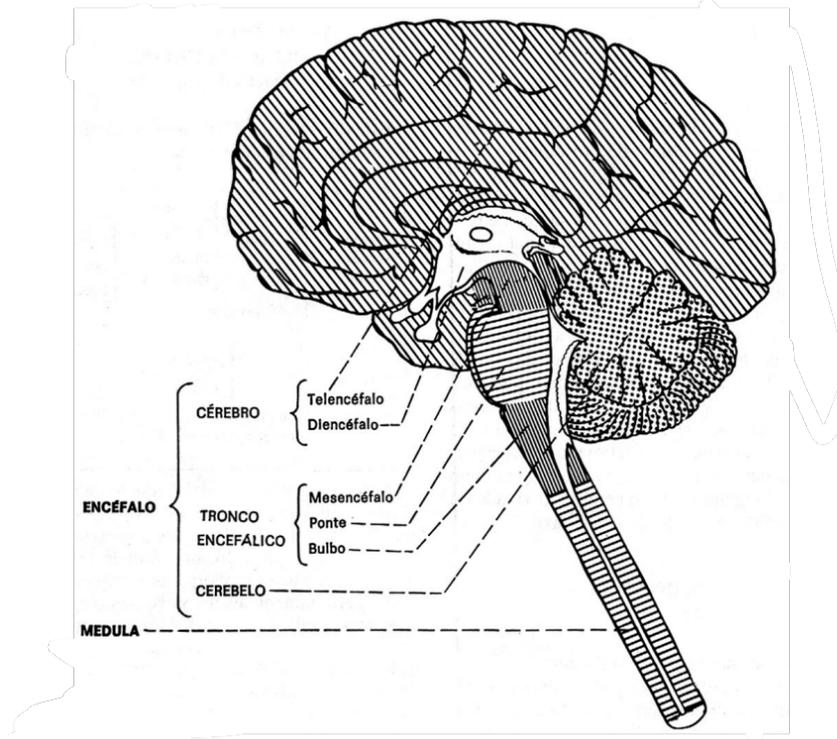


Figura 1 – **Seção mediana do Sistema Nervoso Central.** O Sistema Nervoso Central é dividido em duas grandes partes: a medula espinhal e o encéfalo. Este é subdividido em cérebro, cerebelo e tronco encefálico. O cérebro é composto pelo telencéfalo e pelo diencéfalo, e o tronco encefálico, pelo bulbo, pela ponte e pelo mesencéfalo. (MACHADO, 2020)

atividade elétrica. A membrana das células neuronais separa o meio intracelular, onde há predominância de íons orgânicos com cargas negativas e do íon potássio, do meio extracelular, com íons sódio e cloro predominantes. O potencial de membrana de repouso dos neurônios é de aproximadamente  $-70\text{mV}$ , com excesso de cargas negativas no meio intracelular. Os dendritos recebem estímulos e os traduzem em potencial de repouso da membrana, envolvendo entrada ou saída de íons através de canais iônicos. A despolarização é excitatória e ocorre quando há redução da carga negativa dentro da célula, tornando o potencial mais positivo. A hiperpolarização é inibitória e representa a diminuição do potencial, tornando-se mais negativo que o potencial de repouso. A abertura de canais de íons sódio sensíveis a voltagem no segmento inicial do axônio gera um potencial de grande amplitude do tipo "tudo ou nada", capaz de conservar-se até atingir a terminação axônica. A este potencial dá-se o nome de *potencial de ação* ou *impulso nervoso* (MACHADO, 2020), o qual é a base da concepção dos sinais bioelétricos mensuráveis no sistema servoso.

Os impulsos nervosos passeiam pelos circuitos neurais formados por neurônios interconectados específicos, levando a comportamentos específicos. Em outras palavras, a função comportamental de cada neurônio é determinada por suas conexões com outros neurônios.

---

Um exemplo disso é o reflexo patelar, que restaura o equilíbrio do corpo contraindo os músculos extensores da perna. Primeiramente, o estímulo é gerado com o estiramento do músculo extensor da perna. O neurônio sensorial, então, converte a informação mecânica em impulso nervoso, que se propaga por ele e atinge as sinapses da coluna vertebral. Os neurônios sensoriais fazem sinapse com neurônios motores que ativam a contração dos músculos extensores e com interneurônios inibitórios que inativam os neurônios motores flexores, evitando que a contração dos músculos antagonistas ocorra. Apesar da precisão das conexões do sistema nervoso, a experiência e o aprendizado podem modificar esses circuitos neurais, uma propriedade chamada neuroplasticidade (KANDEL et al., 2013).

A informação sensorial deve ser transformada em sinais elétricos que produzem padrões de atividade neural no cérebro para que seja processada pelo sistema nervoso. O processo pelo qual as características de um estímulo são representadas pela atividade neural é chamado de *codificação*. Na codificação neural, tanto as características do estímulo que fazem com que um neurônio responda quanto a estrutura temporal da resposta e sua relação com as mudanças no mundo externo são relevantes. Esse padrão de disparos, então deve ser interpretado pelo sistema nervoso central. O processo pelo qual a informação é extraída dos disparos neurais é chamado de *decodificação*. A decodificação de sinais neurais pode ser realizada experimentalmente e permite inferir o que um animal ou um humano está vendo ou ouvindo a partir de gravações de neurônios visuais ou auditivos, por exemplo. Os métodos de decodificação são centrais para o desenvolvimento de neuropróteses para pessoas com vários comprometimentos do sistema nervoso que resultam em paralisia extensa (KANDEL et al., 2013).

Algumas áreas do encéfalo não são puramente sensoriais nem puramente motoras, mas compõem sistemas modulatórios de funções sensoriais ou motoras específicas, estando frequentemente relacionados a comportamentos que respondem a uma necessidade primária, tais quais fome, sede ou sono. Por exemplo, no hipotálamo há centros modulatórios e sensoriais que desencadeiam fome a partir dos níveis de glicose no sangue. Para satisfazer a fome, os sentidos da visão, audição e olfato são modulados, focando em estímulos que são relevantes para a alimentação. Por outro lado, um grupo de neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo é importante para monitorar reforços e recompensas, de forma que a satisfação fisiológica que o animal experimenta ao comer, por exemplo, reforça os comportamentos que levaram ao sucesso (KANDEL et al., 2013).

## 2.2 O MESENCÉFALO

O mesencéfalo (ME) é uma estrutura do tronco encefálico que está localizada entre a ponte e o diencéfalo. É constituído por uma porção dorsal, o teto do mesencéfalo, e outra ventral, os pedúnculos cerebrais, separados pelo aqueduto cerebral. Este percorre longitudinalmente o mesencéfalo e é circundado por uma camada espessa de substância cinzenta. Em cada pedúnculo cerebral são distinguidas duas porções, uma ventral e outra dorsal, que são chamadas de base e tegmento, respectivamente. Entre o tegmento e a base, está localizada a substância negra (Figura 2) (MACHADO, 2020).

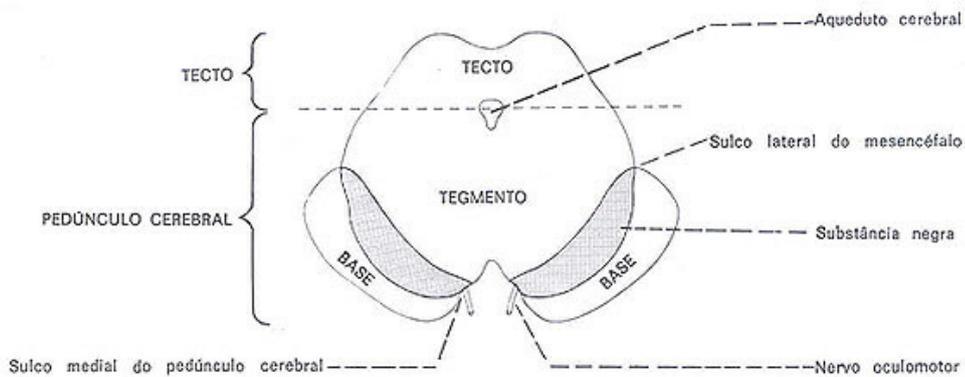


Figura 2 – **Seção transversal do Mesencéfalo.** O Mesencéfalo é constituído por uma porção dorsal, o teto do mesencéfalo, e outra ventral, os pedúnculos cerebrais, separados pelo aqueduto cerebral. Em cada pedúnculo cerebral são distinguidas duas porções divididas pela substância negra, uma ventral e outra dorsal, que são chamadas de base e tegmento, respectivamente.(MACHADO, 2020)

O teto do mesencéfalo é constituído de dois pares de eminências localizados caudalmente, os colículos superiores e inferiores, relacionados à via visual e auditiva, respectivamente (Figura 3). Além disso, a área pré-tetal, cujos limites anatômicos são pouco definidos, também faz parte do teto e está situada na extremidade rostral dos colículos superiores, na fronteira com o diencéfalo. A base do pedúnculo cerebral, por outro lado, é formada por um conjunto compacto de fibras descendentes dos tratos corticoespinhal, corticonuclear e corticopontino. Por último, o tegmento do mesencéfalo, que representa a continuação do tegmento pontino, apresenta porções de substância branca (núcleo dos nervos troclear e oculomotor) e de substância cinzenta (núcleo rubro e substância negra). A formação reticular, que contém a área tegmentar ventral e os núcleos da rafe, também está localizada no tegmento do mesencéfalo (MACHADO, 2020).

O mesencéfalo é crucial para várias funções neurológicas. Ele desempenha um papel motor importante nos movimentos oculares, tanto na musculatura extrínseca quanto na intrínseca

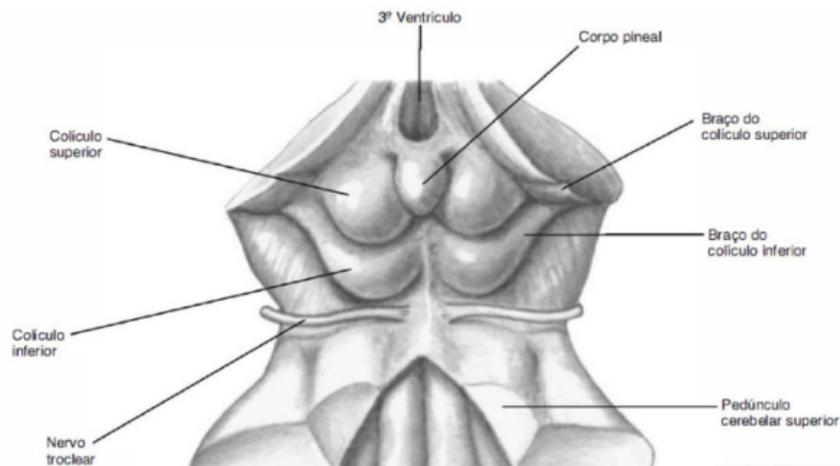


Figura 3 – **Vista posterior do mesencéfalo e outras estruturas, com ênfase nos colículos superiores e inferiores.**

do olho (movimentação do olho e acomodação visual, respectivamente). Além disso, o mesencéfalo recebe impulsos proprioceptivos, participando da modulação da atividade motora dos olhos e dos músculos da mastigação. Também deve-se ressaltar a relevância do mesencéfalo no sistema de recompensa e aprendizado, que é de interesse deste trabalho. A compreensão detalhada das funções e conexões do ME é fundamental para o avanço da neurociência, sendo particularmente importante no estudo de distúrbios motores como a doença de Parkinson. As Síndromes de Weber, Benedikt e Parinaud, que são decorrentes de lesões de estruturas do mesencéfalo, também provêm informações sobre as funções supracitadas e representam fontes de aprendizado para a ciência (MACHADO, 2020).

Neste trabalho, estudaremos algumas subáreas do mesencéfalo, que estão concentradas no colículo superior, área pré-tetal e formação reticular, descritas nas subseções a seguir.

### 2.2.1 Colículo Superior

O colículo superior é uma estrutura que se localiza na região posterior do teto do mesencéfalo e se divide em camadas ou lâminas superpostas, constituídas alternadamente por substância branca e cinzenta. A divisão das camadas segue um padrão similar nos mamíferos. As lâminas I, II e III são consideradas superficiais, as IV e V são intermediárias e as VI e VII são profundas. Os neurônios das camadas superficiais recebem sinais da retina e respondem quase que exclusivamente a estímulos visuais, enquanto os neurônios das lâminas mais intermediárias e profundas recebem outras entradas somatossensoriais e se relacionam com a motricidade

---

ocular. Aqui, serão estudadas as camadas cinzenta intermediária (SCig) e branca intermediária (SCiw), que correspondem às lâminas IV e V, respectivamente.

### 2.2.2 Área Pré-tetal

A área pré-tetal corresponde a um grupo bilateral de núcleos altamente interconectados que estão localizados na porção mais anterior do teto do mesencéfalo, e está relacionada ao controle reflexo da pupila. Seus cinco núcleos primários são núcleo do trato óptico (NOT), núcleo pré-tetal anterior (APN), núcleo pré-tetal posterior (PPT), núcleo pré-tetal olivar (PON) e núcleo pré-tetal medial (MPN), com a presença dos três primeiros núcleos no desenvolvimento deste trabalho.

### 2.2.3 Formação Reticular

A formação reticular ou núcleo reticular do mesencéfalo (MRN) é uma agregação difusa de neurônios separados por uma rede de fibras nervosas que ocupa a parte central do tronco encefálico. A estrutura da FR não corresponde à substância branca nem à cinzenta, sendo considerada algo intermediário entre elas. Nesta região, são encontradas duas estruturas importantes: a área tegmentar ventral (VTA), com neurônios ricos em dopamina, e os núcleos da rafe, continuação dos núcleos da rafe da ponte, compostos por neurônios serotoninérgicos ([MACHADO, 2020](#)).

## 2.3 MOTIVAÇÃO E RECOMPENSA

Aqui, serão discutidos aspectos relacionados a motivação e recompensa, com ênfase no papel da dopamina na modulação do comportamento em busca de recompensas. Serão discutidos os estados motivacionais que influenciam a tomada de decisão e o comportamento em busca de recompensas, bem como as diferenças entre recompensas a curto e longo prazo. A seção incluirá um exame das vias dopaminérgicas, suas interações com outras vias cerebrais e como essas interações influenciam o comportamento, com exemplos de como as lesões nas estruturas do mesencéfalo podem afetar o comportamento relacionado à recompensa. Este eixo da fundamentação teórica é de extrema relevância para as discussões do trabalho, possibilitando entender a relevância dos sistemas de recompensa à sobrevivência e as principais

---

vias com padrões de disparo neurais já bem estabelecidos na literatura.

### 2.3.1 Estado Motivacional

Antes de falar de recompensa, é necessário apresentar o conceito de motivação. Os estados motivacionais influenciam o comportamento direcionado a objetivos, de forma que modulam a atenção, a seleção do objetivo, o investimento de esforço na busca de objetivos e a capacidade de resposta aos estímulos. Os estados motivacionais refletem os desejos de um organismo, que podem ser influenciados tanto pelo estado fisiológico quanto por estímulos que predizem futuras recompensas ou situações adversas. Os estados motivacionais dependem, portanto, de fatores internos e externos. As variáveis internas incluem sinais fisiológicos, tais quais fome, sede, alterações do ciclo circadiano, etc. Outros fatores internos incluem processos cognitivos envolvidos em atividade, jogos ou contextos sociais. Quanto às variáveis externas, são incluídos estímulos sensoriais de incentivo à recompensa, ou seja, percebidos pela visão e olfato, por exemplo (KANDEL et al., 2021).

### 2.3.2 Recompensa

Recompensas são objetos, estímulos ou atividades que possuem um valor positivo e podem incitar um animal a mudar de comportamento ou resistir à interrupção de uma ação em andamento. Sistemas neurais que processam recompensa devem ligar a representação sensorial inicial da recompensa a comportamentos que respondam a diferentes estados motivacionais engatilhados por necessidades fisiológicas e estímulos ambientais. Além disso, este sistema deve ser capaz de medir os custos e benefícios para proporcionar tomadas de decisão em prol de um objetivo. Patologias, tal qual o vício, podem prejudicar os sistemas neurais envolvidos na recompensa, levando a comportamentos mal adaptados (KANDEL et al., 2021).

Em 1954, Olds e Milner realizaram estudos de autoestimulação elétrica do cérebro em diversos animais. O trabalho teria como objetivo indicar os circuitos neurais responsáveis por comportamentos relacionados à recompensa. O fenômeno que leva o animal a trabalhar para a auto-estimulação é chamado de recompensa pela estimulação cerebral. A estimulação cerebral, portanto, evoca um estado motivacional, um forte impulso para realizar uma ação (por exemplo, pressionar uma alavanca, como na Figura 4) que proporcionará mais estimulação. Efeitos recompensadores podem ser produzidos pela estimulação elétrica de locais em todos os

níveis do cérebro, desde o bulbo olfatório até o núcleo do trato solitário. Locais particularmente eficazes estão ao longo do trajeto do feixe prosencefálico medial e ao longo de feixes de fibras orientadas longitudinalmente próximos à linha média do tronco cerebral. A estimulação dessas regiões resulta na ativação de neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral do mesencéfalo (VTA). Esses neurônios projetam-se para várias áreas do cérebro, incluindo o núcleo accumbens, a porção ventromedial da cabeça do núcleo caudado, o prosencéfalo basal e regiões do córtex pré-frontal (KANDEL et al., 2021).

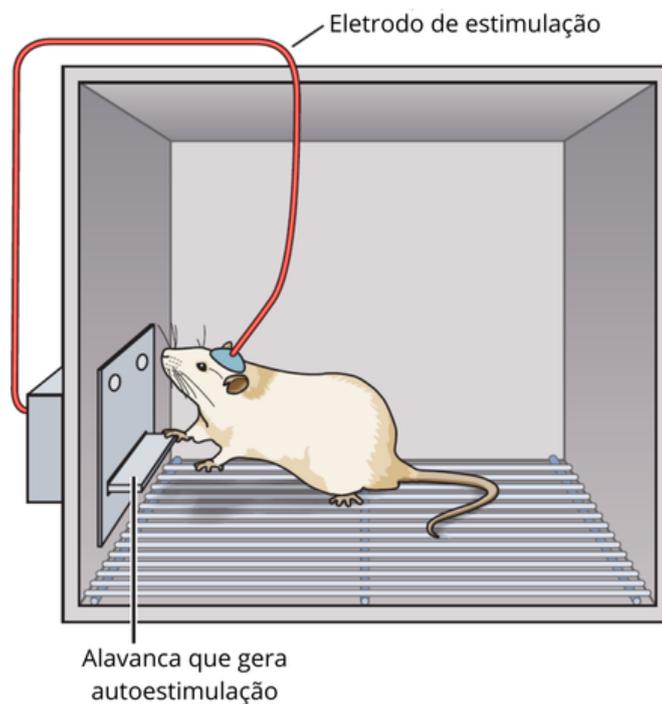


Figura 4 – **Aparato clássico para experimentos de autoestimulação.** Neste caso, o roedor tem um eletrodo implantado em uma região cerebral, cuja estimulação elétrica pode ser realizada ao pressionar a alavanca (KANDEL et al., 2021).

Embora as vias dopaminérgicas tenham papel majoritário na mediação da recompensa pela estimulação cerebral, é importante enfatizar que também há o envolvimento de vias não dopaminérgicas. Os neurônios dopaminérgicos que partem do VTA são excitados por neurônios glutamatérgicos no córtex pré-frontal e na amígdala, bem como por células colinérgicas nos núcleos tegmentar laterodorsal e pedunculo pontino do tronco encefálico. Por outro lado, também recebem sinais inibitórios via neurônios gabaérgicos localizados na própria VTA, ou bem próximos a ela. Acredita-se que os neurônios da VTA são, em parte, ativados através da ativação dos neurônios colinérgicos do tronco encefálico, cujo bloqueio pode acarretar na atenuação dos efeitos recompensadores da estimulação elétrica. Os circuitos de recompensa do cérebro estão resumidos na Figura 5 (KANDEL et al., 2021).

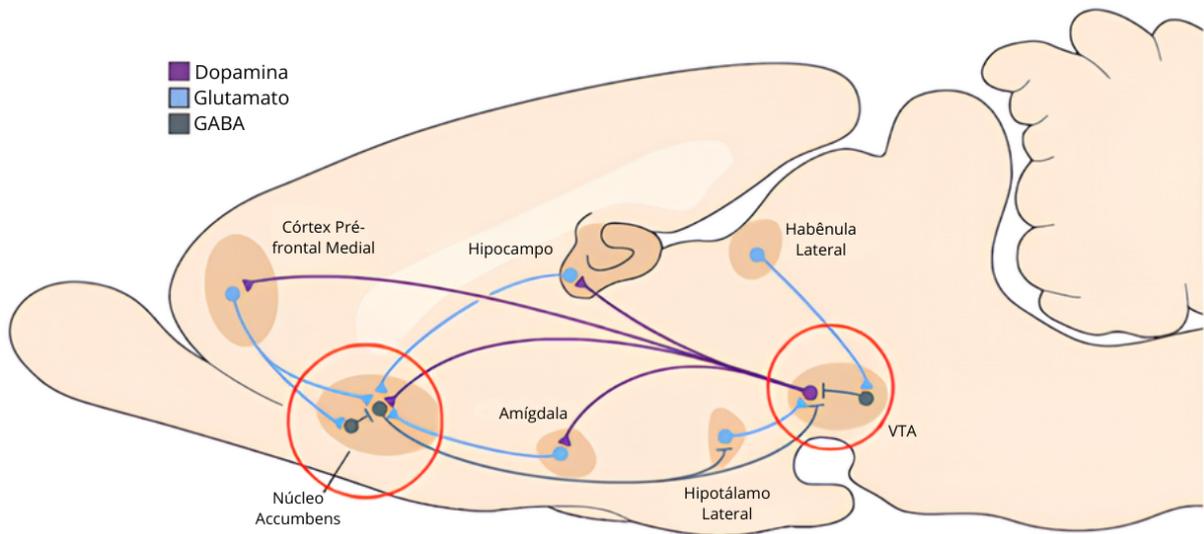


Figura 5 – **Circuitos de recompensa do Encéfalo.** O esquema mostra as principais vias dopaminérgicas, glutamatérgicas e gabaérgicas que envolvem a área tegmentar ventral (VTA) e o núcleo accumbens (NAc), em um roedor. As projeções do VTA liberam dopamina em resposta a estímulos recompensatórios e, em alguns casos, a estímulos não-recompensatórios. As vias glutamatérgicas partem do córtex pré-frontal, do hipocampo e da amígdala para o NAc, e da habênula lateral e do hipotálamo para a VTA. Vias inibitórias gabaérgicas projetam do NAc para o hipotálamo e a VTA, sendo que esta última ocorre tanto diretamente quanto indiretamente, via pálido ventral (não mostrado). Além disso, também são encontrados interneurônios inibitórios no NAc e na VTA. Ademais, a VTA recebe entradas da amígdala e do córtex pré-frontal e de vários núcleos do tronco cerebral que usam o neurotransmissor acetilcolina (não mostrado). Essas várias entradas controlam aspectos da percepção e da memória relacionados à recompensa. (KANDEL et al., 2021)

Recompensas podem atender a necessidades regulatórias e não regulatórias tanto em escalas de tempo curtas quanto longas. Em curto prazo, comportamentos como comer, beber ou buscar refúgio térmico respondem a desequilíbrios fisiológicos imediatos, promovendo ações rápidas que restauram a homeostase. Por outro lado, recompensas de longo prazo estão associadas a objetivos mais complexos que não se limitam à manutenção fisiológica, como construir relacionamentos duradouros, concluir uma formação educacional ou alcançar metas profissionais. Esses objetivos exigem ações sequenciais e persistência ao longo do tempo, mesmo quando cada ação individual não resulta em uma recompensa imediata, mas sim no progresso em direção à meta maior. (KANDEL et al., 2021)

### 2.3.3 O papel da Dopamina

Os efeitos da dopamina são bem mais complexos do que se pensava inicialmente. A dopamina em si não produz prazer, na verdade, uma ampla rede de regiões do cérebro é que

processa o grau ou intensidade de recompensação de um estímulo sensorial. Dentre as áreas envolvidadas, no córtex, citam-se as porções somatossensorial, associativa e pré-frontal, e nas regiões subcorticais, a amígdala, o hipocampo, o núcleo accumbens e o pálido ventral (KANDEL et al., 2021).

Muitas das áreas do cérebro cuja atividade é modulada pela antecipação ou recebimento de recompensa recebem entrada dopaminérgica. Schultz e colaboradores descobriram que os neurônios dopaminérgicos frequentemente têm um padrão de respostas à recompensa bastante complexo e variável durante o aprendizado. O experimento conduzido está representado na Figura 6. Isto sugere que a descarga de dopamina no encéfalo funciona como um sinal preditor de erro, e não uma fonte de prazer (KANDEL et al., 2021).

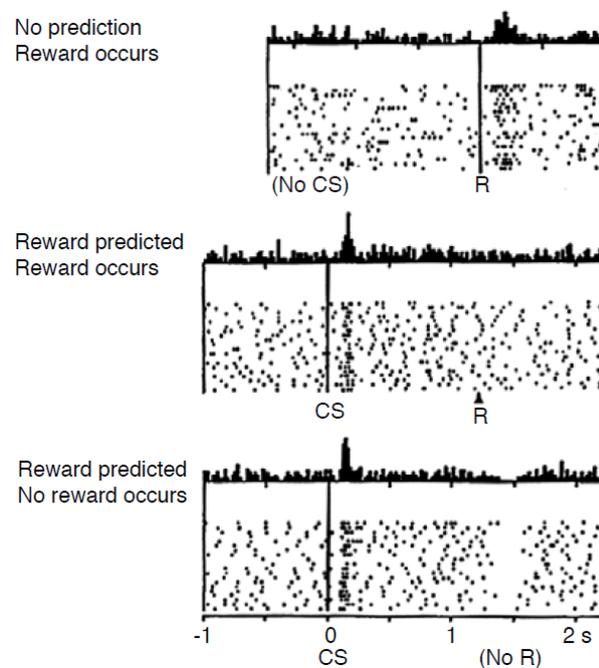


Figura 6 – **Os neurônios dopaminérgicos reportam erro na previsão de recompensa.** Os gráficos mostram as taxas de disparo registradas de neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo em macacos acordados e ativos. No topo: Uma gota de líquido doce é entregue sem aviso a um macaco. A recompensa inesperada (R) provoca uma resposta nos neurônios. A recompensa pode, assim, ser interpretada como um erro positivo na previsão da recompensa. No meio: O macaco foi treinado para que um estímulo condicionado (CS) preveja uma recompensa. Neste registro, a recompensa ocorre conforme a previsão e não provoca uma resposta nos neurônios porque não há erro na previsão da recompensa. Os neurônios são ativados pela primeira aparição de um estímulo preditivo, mas não pela recompensa. Embaixo: Um estímulo condicionado prevê uma recompensa que não ocorre. Os neurônios dopaminérgicos mostram uma diminuição no disparo no momento em que a recompensa deveria ter ocorrido, além do aumento no disparo médio no estímulo condicionado. (SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997).

Schultz e colaboradores também expandiram essa linha de pesquisa ao explorar múltiplos sinais de recompensa no cérebro, revelando que os neurônios dopaminérgicos não apenas respondem ao erro de previsão de recompensa, mas estão envolvidos em processos mais complexos

de modulação de comportamentos dirigidos por metas. Além de sinalizarem o erro de previsão, esses neurônios contribuem para a expectativa de recompensa, influenciando comportamentos antes que as recompensas sejam obtidas. Como descrito por Schultz ([SCHULTZ, 2000](#)), os neurônios dopaminérgicos exibem uma ativação fásica em resposta a estímulos que preveem recompensas e são modulados de acordo com o valor motivacional e a probabilidade da recompensa. Isso implica que o sistema dopaminérgico não apenas fornece informações sobre recompensas recebidas, mas também sobre a antecipação de recompensas futuras, orientando a tomada de decisões e o comportamento de busca de recompensa.

Esses achados ampliam a compreensão sobre o papel dos sinais de recompensa no aprendizado e no comportamento dirigido por metas. A ideia de que os neurônios dopaminérgicos codificam não apenas erros de previsão, mas também expectativas de recompensas, oferece uma explicação para como o cérebro integra informações sobre eventos passados e futuros para otimizar a busca de recompensas. O papel da dopamina no mesencéfalo, particularmente na área tegmentar ventral e na substância negra, se alinha à regulação de funções essenciais ao controle de comportamento, reforçando o papel da dopamina não como uma fonte direta de prazer, mas como um modulador de aprendizado preditivo e de ajustes comportamentais frente a novas contingências ([SCHULTZ, 2000](#)).

De fato, diversos estudos recentes demonstraram uma variação considerável nas propriedades das respostas de diferentes subpopulações dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo, de forma que estímulos de recompensa e estímulos desagradáveis podem estimular esses neurônios. O que varia é a prioridade do estímulo: para alguns a resposta é equiparável, mas, para outros, há preferência entre um dos dois tipos de estímulo. Em algumas subpopulações, o estímulo positivo estimula a resposta e o negativo a suprime. Entender o papel preciso dessa mistura de sinais dopaminérgicos permanece sendo uma área de investigação científica ([KANDEL et al., 2021](#)).

## 2.4 SINAIS DO SISTEMA NERVOSO

A atividade neuronal do sistema nervoso dá origem a correntes transmembrana que podem ser medidas por meio de eletrodos no meio extracelular e, através do processamento da informação captada, podem ser estudados diferentes sinais, tais quais Eletroencefalograma (EEG), *Local Field Potential* (LFP) e *spikes*. Para um determinado ponto localizado no Sistema Nervoso, correntes elétricas de diferentes processos celulares se superpõem e geram um

potencial escalar. A diferença no potencial de dois pontos distintos dá origem ao campo elétrico, um vetor, que é o gradiente negativo do potencial escalar. Esses campos elétricos podem ser monitorados por eletrodos extracelulares, permitindo o estudo das comunicações das redes neuronais. De acordo com o método de gravação, sinais diferentes são obtidos. Quando o eletrodo está posicionado no couro cabeludo, o sinal é referido como EEG; quando na superfície cortical, obtêm-se o Eletrocorticograma (ECoG); e, através de pequenos eletrodos colocados no cérebro, temos o LFP (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

#### 2.4.1 Origem do Campo Elétrico Extracelular

Quaisquer correntes transmembrana, independente de sua natureza, podem gerar, em superposição, um potencial escalar, com a amplitude do sinal sendo inversamente proporcional à distância da corrente ao sítio de aquisição do sinal bioelétrico. Estas correntes podem ser de origem sináptica ou não sináptica. Neste último caso, as correntes são provenientes de potenciais de ação rápidos, *spikes* de cálcio, correntes intrínsecas, interações de *gap junctions* e neuróglia, dentre outras fontes de corrente. Potenciais de ação rápidos geram as correntes mais intensas através da membrana neuronal e podem ser identificados como atividade de unidade ou *spike* no meio extracelular (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

Geralmente, a atividade sináptica é a principal fonte de corrente extracelular, visto que eventos sinápticos lentos facilitam a sobreposição temporal das correntes extracelulares, criando um sinal mensurável. Neurotransmissores atuam em receptores AMPA e NMDA, permitindo o fluxo de íons ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ) para dentro da célula, criando um sumidouro extracelular local. A partir disso, é gerada uma corrente passiva ou de retorno, que juntamente à corrente gerada pelo influxo de íons, formam um dipolo ou um n-polo de ordem maior, dependendo da distância entre as duas fontes de corrente. Este dipolo ou n-polo irá contribuir para o potencial elétrico extracelular, representando a principal base fisiológica do campo elétrico extracelular no caso de correntes sinápticas. Correntes inibitórias mediadas por receptores  $\text{GABA}_A$ , em condições normais, têm pouca contribuição para o campo extracelular, exceto em neurônios ativos, em que essas correntes inibitórias podem gerar correntes transmembrana significativas devido à despolarização (e, por vezes, hiperpolarização) da membrana (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

## 2.4.2 Métodos de Gravação de Eventos Extracelulares da Atividade Neuronal

São muitas as formas de registrar a atividade neuronal em termos do campo elétrico extracelular, sendo exemplos a Eletroencefalografia, Magnetoencefalografia, Eletrocorticografia e métodos de gravação do *Local Field Potential* (Figura 7). A Eletroencefalografia é uma das formas de registro mais antigas, sendo largamente utilizada na investigação da atividade elétrica do cérebro. O EEG é obtido através do posicionamento de eletrodos no couro cabeludo, que leva a efeitos de distorção e de atenuação do sinal devido à presença de tecidos entre o córtex, intrínsecos ao método. Outro método não invasivo é a Magnetoencefalografia, a qual possui resolução espaço-temporal ótima por utilizar sensores de campos magnéticos extramente sensíveis para medir pequenos campos magnéticos fora do crânio, provenientes das correntes neuronais. A Eletrocorticografia, por outro lado, é um método invasivo, cujos eletrodos devem ser posicionados no espaço subdural, de modo a contornar a distorção e a atenuação do sinal provocadas pela dura-máter, e pelo crânio e os tecidos moles que o revestem (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

Os três métodos supracitados captam principalmente a atividade elétrica que ocorre nas camadas mais superficiais do córtex. Quando se deseja estudar a atividade neuronal em sítios mais profundos, são inseridos eletrodos de metal ou vidro, ou sondas de silício, no cérebro, que resulta no sinal de LFP. A gravação de um sinal de banda larga (de corrente contínua até 40 kHz) por meio de um microeletrodo proporciona um sinal com maior robustez em detalhes, o que permite a melhor investigação da eletrogênese cortical. Para alcançar uma alta resolução espacial, é necessário dispor de muitos pontos de observação, situados a distâncias curtas entre si e com mínimo impacto possível no tecido cerebral. A partir disso, é possível monitorar a atividade de disparo de quase todos os neurônios, ou pelo menos de uma amostra representativa, dentro de um pequeno volume. O progresso nesse campo tem sido acelerado pela disponibilidade de sondas de silício micro-usinadas com um número cada vez maior de eletrodos. Potenciais de ação síncronos de muitos neurônios podem contribuir de forma significativa para os componentes de alta frequência do LFP. Por isso, com métodos apropriados, é possível extrair informações valiosas do LFP sobre a estrutura temporal das populações de neurônios em disparo, obtendo-se dados de *spikes* (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

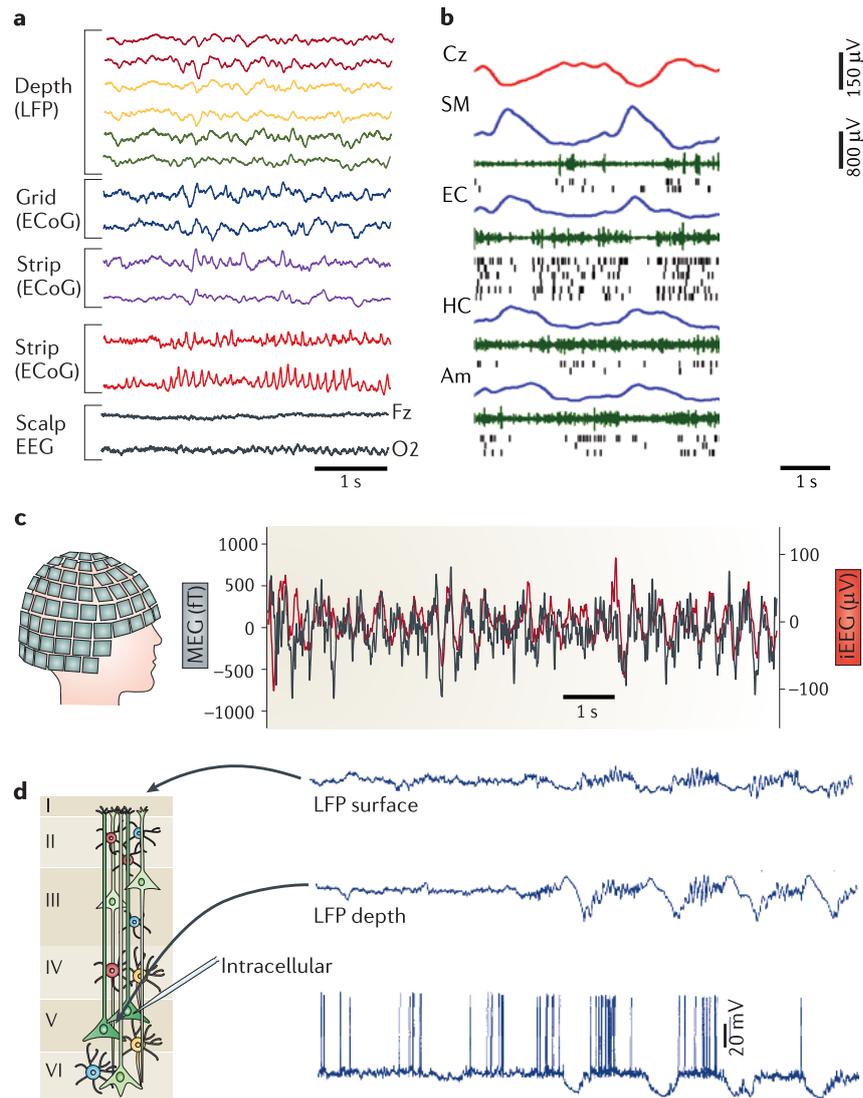


Figura 7 – **Métodos de Registro de Eventos Extracelulares da Atividade Neuronal.** (a) Registros simultâneos de três eletrodos profundos (cada um com dois locais selecionados) na amígdala e hipocampo esquerdos (medindo o potencial de campo local, LFP); uma matriz de eletrodos subdurais de  $3 \times 8$  colocada sobre o córtex temporal lateral esquerdo (medindo o electrocorticograma, ECoG); duas tiras de quatro contatos colocadas sob a superfície temporal inferior (medindo o ECoG); uma tira de oito contatos colocada sobre a superfície orbitofrontal esquerda (medindo o ECoG); e eletroencefalografia de couro cabeludo (EEG) sobre ambos os hemisférios (nas posições Fz e O2) em um paciente com epilepsia resistente a medicamentos. Os sinais de amplitude são maiores e os padrões de alta frequência têm maior resolução nos locais intracerebrais (LFP) e de ECoG em comparação com o EEG de couro cabeludo. (b) Intervalo de 6 segundos de ondas lentas registrada pelo EEG de couro cabeludo (Cz, em vermelho) e pelo LFP (em azul) captado por eletrodos profundos colocados nas camadas profundas da área motora suplementar, córtex entorrinal, hipocampo e amígdala. Também estão representadas a atividade de múltiplas unidades (em verde) e os picos de neurônios isolados (marcadores pretos). (c) Magnetoencefalograma (MEG; em preto) e EEG de profundidade do hipocampo anterior (em vermelho) registrados simultaneamente em um paciente com epilepsia resistente a medicamentos. (d) Traçados de LFP registrados simultaneamente nas camadas superficiais ("LFP surface") e profundas ("LFP depth") do córtex motor de um gato anestesiado e um traçado intracelular ("Intracellular") de um neurônio piramidal da camada 5. Observa-se a alternância de hiperpolarização e despolarização (oscilação lenta) do neurônio da camada 5 e as mudanças correspondentes no LFP. As ondas positivas na camada profunda (próxima ao neurônio registrado) também são conhecidas como ondas delta. (BUZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

## 2.5 EVOLUÇÃO RECENTE DO REGISTRO SIMULTÂNEO DE GRANDES POPULAÇÕES DE NEURÔNIOS

O número de neurônios registrados simultaneamente cresceu exponencialmente nas últimas décadas, dobrando a cada sete anos, impulsionado por avanços nas tecnologias de multieletródos e no processamento de dados, até chegar na tecnologia dos neuropixels, utilizada pelo Projeto Visual Behavior Neuropixels. Os eletrodos que, a princípio, eram fabricados manualmente, passaram a ser fabricados de forma automatizada em silício e, aliados a melhorias no hardware computacional, permitiram registrar sinais de centenas de neurônios. Esta condição criou desafios para as técnicas de análise, que precisam lidar com o aumento de dados e a complexidade das interações neurais. Por isso, é fundamental atenuar as diferenças entre os eletrodos e o tecido neural, criando interfaces de registro estáveis ao nível de neurônios individuais. A fabricação de tecnologia de semicondutor de óxido metálico complementar, por exemplo, possibilitou que os eletrodos fossem reduzidos e funcionalizados, registrando e modulando a atividade neural de forma precisa e minimamente invasiva, com funções elétricas, ópticas e bioquímicas integradas. Essas tecnologias prometem viabilizar o estudo da coordenação entre regiões cerebrais distantes, o monitoramento a longo prazo da evolução dos circuitos neurais e o entendimento detalhado de mecanismos de memória e aprendizagem, revolucionando a compreensão do cérebro em seu estado natural e superando limitações tecnológicas (STEVENSON; KORDING, 2011; HONG; LIEBER, 2019).

### 2.5.1 Matrizes de multieletródos

Na década de 90, Nicolelis e colaboradores descreveram a implementação de uma técnica para gravações simultâneas de muitos neurônios individuais em múltiplos locais por meio de matrizes de multieletródos. Foram estudados 22 ratos, registrando-se um total de 883 neurônios por configurações de eletrodos como as ilustradas na Figura 8A. Nessas configurações, o espaçamento ideal das microfibras para implantes corticais e subcorticais era de 100–250  $\mu\text{m}$  (Figuras 8B e 8C), sendo que um máximo de 48 microfibras foi implantado por animal. Esse arranjo permitiu registros simultâneos de neurônios nos núcleos do gânglio trigeminal (Vg), do núcleo principal (PrV) e do núcleo espinhal (SpV) do complexo do tronco encefálico trigeminal, do núcleo ventral pósteromedial (VPM) do tálamo e do córtex somatossensorial primário (SI) (Figura 8D). Registros de longo prazo foram obtidos usando microfibras com pontas cegas

(Figura 8B), que se mostraram muito mais adequadas para gravações crônicas de longo prazo do que eletrodos com pontas finas. As sondas de multieletrodos mostraram-se muito eficazes, já que uma média de  $2,3 \pm 0,4$  neurônios pôde ser isolada por microfibras, e, para cada conjunto de 16 microfibras, uma média de  $13,9 \pm 2,1$  eletrodos (ou 86% das microfibras implantadas) resultou em pelo menos uma unidade discriminável (NICOLELIS et al., 1997).

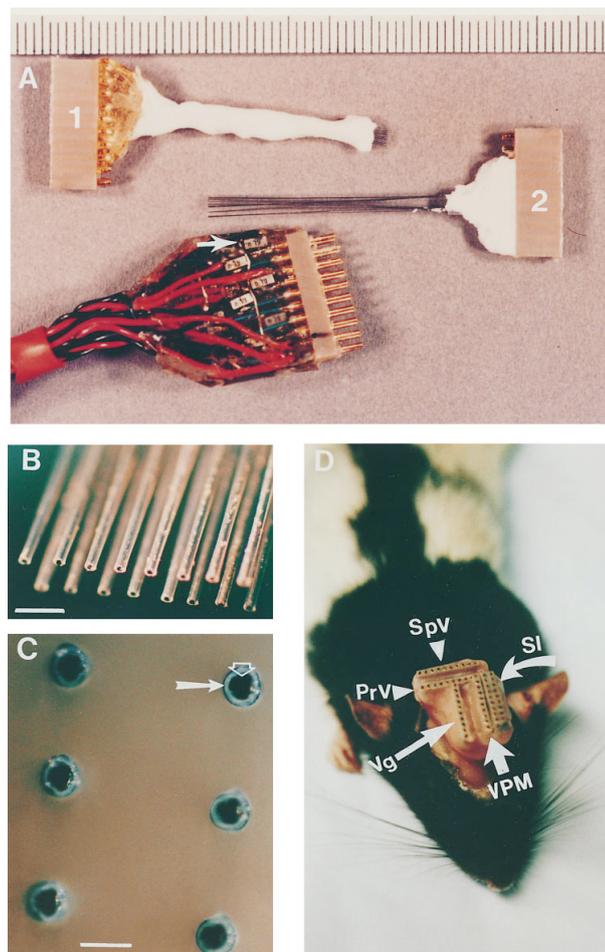


Figura 8 – **Configuração de Eletrodos para Implantes Crônicos Multinível** (A) Matrizes de microfios (1) e feixes (2) foram projetados para maximizar a amostragem em várias sub-regiões das estruturas corticais e subcorticais de interesse. As matrizes (1) foram utilizadas principalmente para implantes corticais e talâmicos, enquanto os feixes (2) foram usados para implantes no tronco cerebral. Transistores de efeito de campo (seta) foram posicionados na cabeça do implante para corrigir a incompatibilidade de impedância e amplificar o sinal extracelular. (B) Vista ampliada de uma matriz de microfios, mostrando duas fileiras de oito microfios pouco antes de um implante crônico. (C) Vista superior de seis microfios formando uma matriz. Observe o revestimento de Teflon (seta cheia) envolvendo o microfio de aço inoxidável até a ponta romba (seta vazada). (D) Exemplo de um implante multisítio. Barras de escala: (A) 1 mm por divisão, (B) 250  $\mu\text{m}$ , e (C) 60  $\mu\text{m}$ . (NICOLELIS et al., 1997).

Um sistema de Processador de Aquisição de Muitos Neurônios (MNAP) (Figura 9) foi usado para todos os experimentos por Nicolelis e seus colaboradores. A configuração deste sistema foi fundamental para o desempenho das gravações populacionais, visto que a estratégia

visava maximizar o número de unidades discriminadas em tempo real, o que reduziu o tempo gasto na análise *off-line*. Os sinais analógicos de diversas formas de onda foram capturados para validação dos parâmetros de discriminação. Com essa abordagem, realizaram-se gravações simultâneas em múltiplos locais, o que permitiu a reconstrução do fluxo paralelo de informações sensoriais através de vários retransmissores subcorticais e corticais do sistema somatossensorial trigeminal do rato (Figura 10) (NICOLELIS et al., 1997).

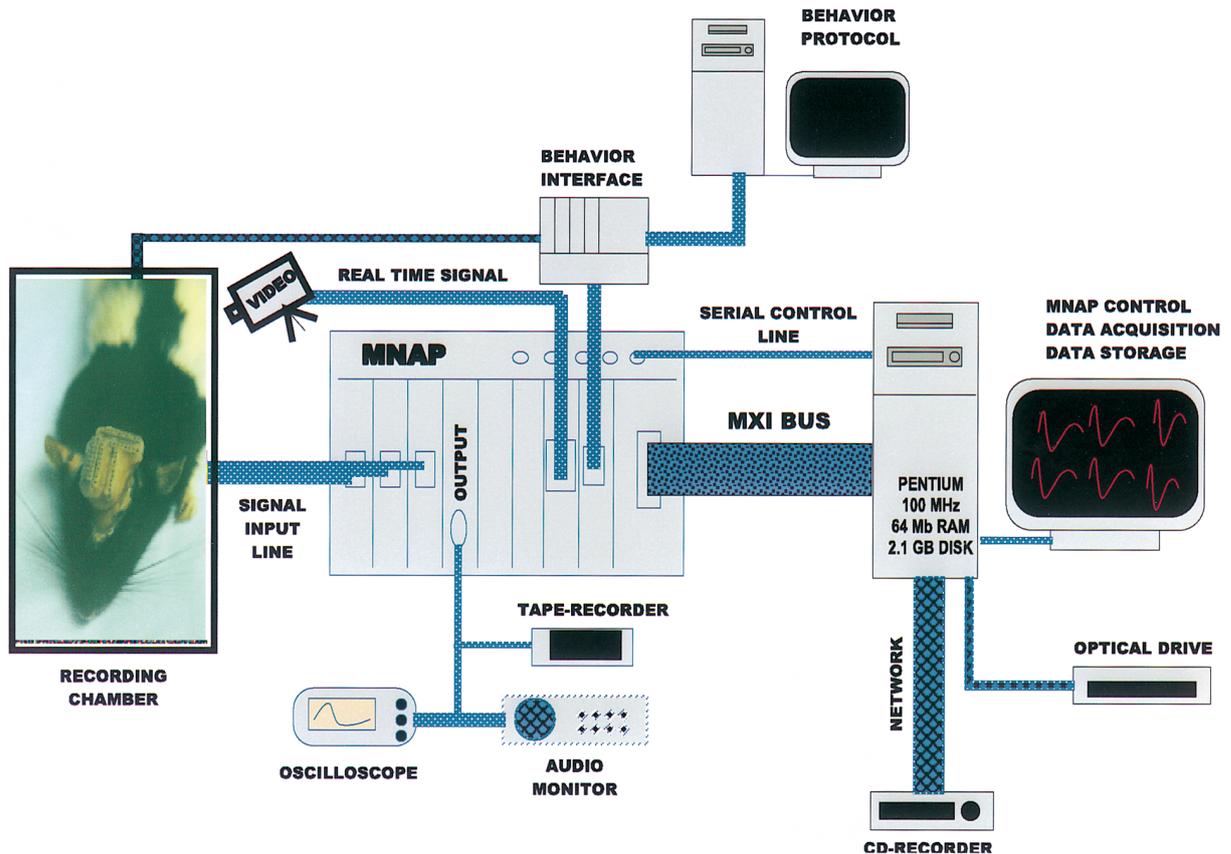


Figura 9 – **Integração de Configurações de Registro e Comportamento.** Este diagrama esquemático descreve a organização do setup de comportamento e eletrofisiologia para registros de conjuntos neuronais em experimento conduzido por Nicolelis e colaboradores. Um único microcomputador controla o MNAP de 96 canais e o armazenamento de dados experimentais, transmitidos do MNAP para o computador pessoal por meio do barramento MXI de alta velocidade. O MNAP é responsável pela amostragem de dados, discriminação de formas de onda, geração de sinais de tempo em tempo real para sincronização de dispositivos externos, como uma câmera de vídeo e a interface de comportamento. Uma placa de saída permite a monitoração visual e auditiva dos sinais analógicos. Os arquivos de dados são transmitidos através de uma rede para armazenamento temporário em uma unidade óptica e, posteriormente, para armazenamento de longo prazo em CD-ROMs. Um segundo microcomputador edita protocolos de comportamento e controla a configuração de comportamento. (NICOLELIS et al., 1997).

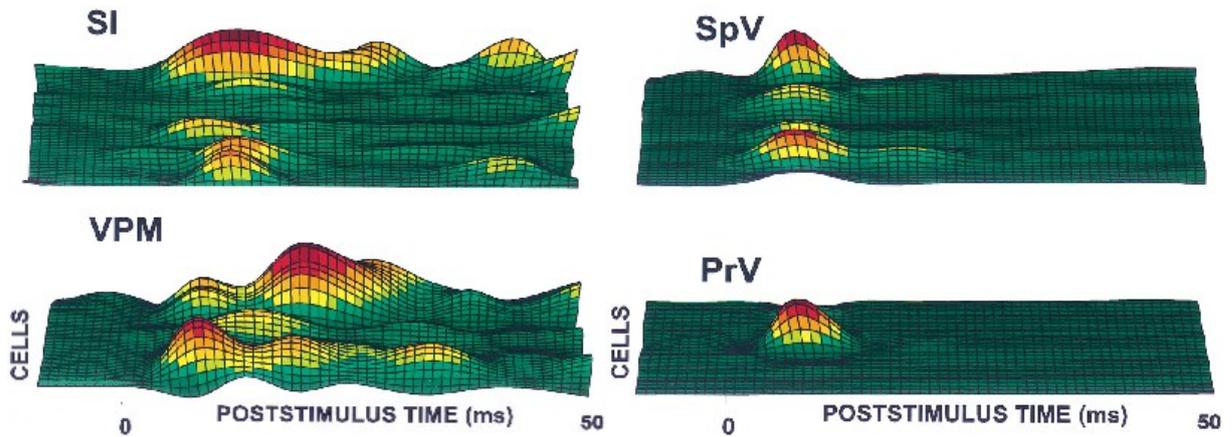


Figura 10 – **Registros Multiníveis em Animais em Comportamento.** Registros simultâneos de conjuntos neuronais em múltiplos níveis permitiram quantificar a propagação espaço-temporal da ativação neuronal através de vários níveis de processamento do sistema somatossensorial trigeminal do rato, após a estimulação de um único bigode. Em cada nível da via, gráficos em 3D foram utilizados para representar os padrões de atividade dos conjuntos neuronais. Nestes gráficos, o eixo x representa o tempo pós-estímulo (em ms), o eixo y representa o número de neurônios registrados em cada nível, e o gradiente codificado por cores no eixo z foi usado para representar a magnitude da resposta dos neurônios (em picos/s). Neste esquema, vermelho escuro indica a maior taxa de disparo (140–150 picos/s), e verde escuro indica a menor taxa de disparo (0–10 picos/s). SI, córtex somatossensorial; VPM, núcleo medial posterior ventral do tálamo; SpV, núcleo espinhal do complexo do tronco encefálico trigeminal; e PrV, núcleo principal do complexo trigeminal do tronco encefálico. (NICOLELIS et al., 1997).

## 2.5.2 Sondas montadas em silício

Com o advento de novas técnicas de gravação extracelular multissítios, foi possível realizar a triangulação de distâncias para o isolamento e identificação individual dos neurônios (Figura 11). Idealmente, as pontas dos eletrodos estão separadas no espaço tridimensional para que uma triangulação inequívoca seja possível em um volume. Isso pode ser feito com quatro fios espaçados com cerca de 50  $\mu\text{m}$  de distância, no caso dos tetrodos, ou por meio de sondas montadas em silício, as *silicon probes* (BUZSÁKI, 2004).

Os tetrodos de fio têm várias vantagens sobre eletrodos únicos de ponta afiada, incluindo maior rendimento de unidades, pontas de gravação de baixa impedância e estabilidade mecânica. Como a ponta de gravação não precisa ser colocada nas proximidades imediatas do neurônio, são possíveis gravações de longo prazo em animais em comportamento. Estes eletrodos podem registrar células a até 140  $\mu\text{m}$  lateralmente do corpo celular em que está posicionado. Um cilindro com raio de 140  $\mu\text{m}$  contém aproximadamente 1.000 neurônios no córtex de rato, que é o número de células teoricamente registráveis por um único eletrodo (Figura 11). No entanto, na prática, apenas uma pequena fração dos neurônios pode ser separada com

segurança usando as sondas e algoritmos de classificação de picos atualmente disponíveis. Os neurônios restantes podem ser danificados pela ponta cega dos fios próximos, podem ser silenciosos ou muito pequenos em amplitude. Assim, há uma grande diferença entre o número de neurônios registrados rotineiramente e o número teoricamente registrável. Ademais, o eletrodo idealmente possui um volume muito pequeno, de modo que o dano ao tecido seja minimizado. No entanto, um número muito grande de locais de gravação é ideal para monitorar muitos neurônios (BUZSÁKI, 2004).

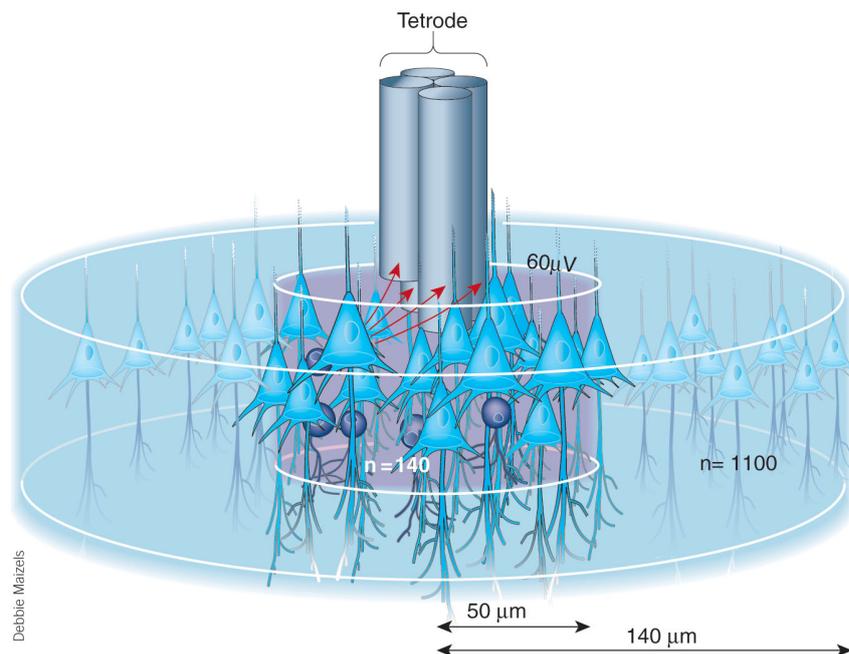


Figura 11 – **A qualidade do isolamento das unidades varia em função da distância do eletrodo.** Eletrodos de múltiplos sítios (tetrodo de fio, por exemplo) podem estimar a posição dos neurônios registrados por triangulação. A distância entre as pontas visíveis dos eletrodos e uma única célula piramidal (representada por triângulos) é indicada por setas. A amplitude do sinal dos neurônios ( $>60 \mu\text{V}$ ) dentro do cilindro cinza (com raio de  $50 \mu\text{m}$ ), que contém aproximadamente 100 neurônios, é suficientemente grande para permitir a separação por métodos de agrupamento atualmente disponíveis. Embora a amplitude do pico extracelular registrado diminua rapidamente com a distância, é possível detectar neurônios em um raio de até  $140 \mu\text{m}$ , abrangendo aproximadamente 1.000 neurônios no córtex de rato, sendo necessário métodos aprimorados de gravação e agrupamento para registrar um número de neurônios real maior. (BUZSÁKI, 2004).

As *silicon probes*, apesar de oferecem as mesmas vantagens dos princípios de gravação dos tetrodos, são substancialmente menores em tamanho, promovendo menos dano aos tecidos. Além disso, múltiplos locais de gravação podem ser dispostos em uma distância maior, permitindo a gravação simultânea da atividade neuronal em várias camadas corticais. As sondas do tipo multieixo podem registrar até cem neurônios bem separados (Figura 12). É importante destacar que a distribuição geometricamente precisa dos locais de gravação permite a determinação da relação espacial dos neurônios isolados, sendo essencial para o estudo da

representação e transformação espaço-temporal dos estímulos pelos conjuntos neuronais (BUZSÁKI, 2004).

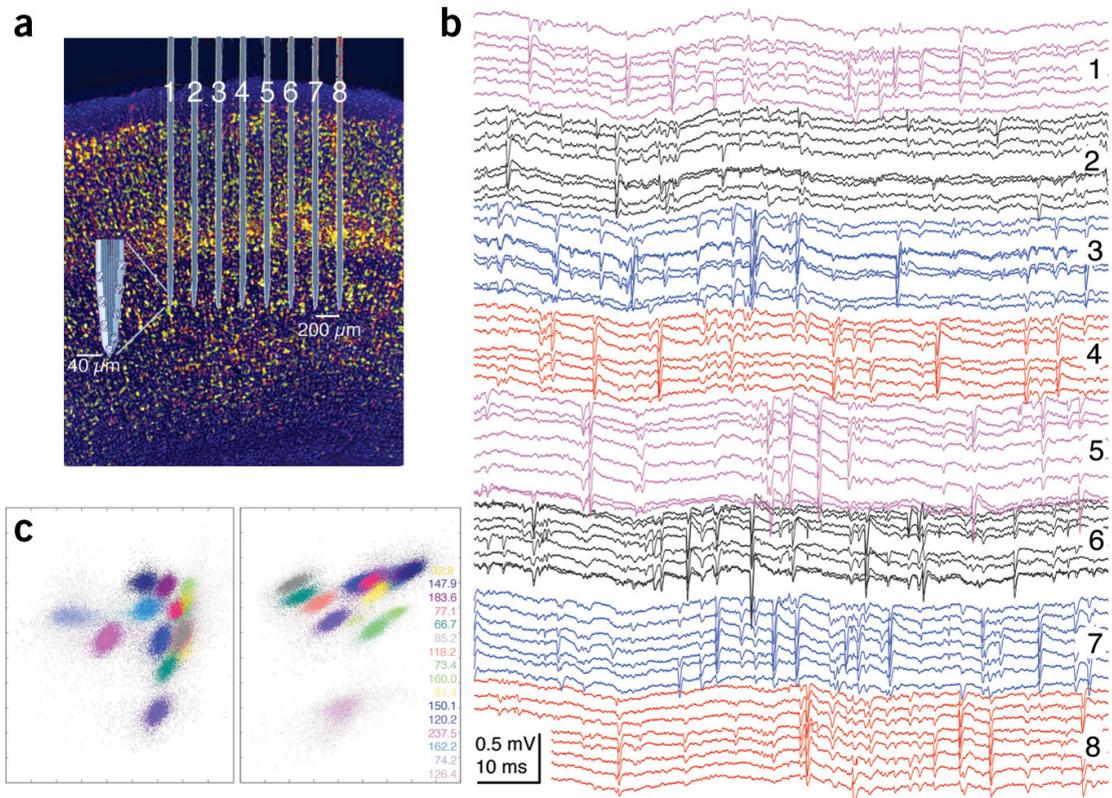


Figura 12 – Registro de Alta Densidade da Atividade de Unidades na Área Somatossensorial do Córtex de Rato. **(a)** Posicionamento de uma sonda de silício com oito hastes na camada 5. Os oito locais de gravação de irídio nas extremidades da ponta (detalhe) estão conectados aos componentes eletrônicos extracranianos por meio de interconexões de 2  $\mu\text{m}$ . **(b)** Um curto intervalo de gravação bruta, ilustrando a atividade de campo e de unidades (1–5 kHz). Observe a presença de picos em vários locais da mesma haste (codificados por cores) e a ausência de picos entre diferentes hastes, indicando que eletrodos posicionados a  $\leq 200 \mu\text{m}$  lateralmente registram de diferentes populações celulares. **(c)** Vistas bidimensionais de clusters de unidades (de um total de 28 visualizações possíveis com uma sonda de oito locais) de uma única haste. Os clusters são codificados por cores. O sucesso da separação dos clusters é quantificado medindo a distância de Mahalanobis a partir do centro de um cluster específico, dentro da qual pertencem tantos pontos a outros clusters quanto ao cluster especificado. Valores maiores da "distância de isolamento" (à direita) correspondem a um isolamento neuronal progressivamente melhor. (BUZSÁKI, 2004).

### 2.5.3 Neuropixels

Jun e colaboradores desenvolveram a sonda Neuropixels para atender à necessidade de registrar grandes populações de neurônios em múltiplas regiões cerebrais simultaneamente

e em animais livres. Esse dispositivo de silício integra 384 canais de gravação que podem ser programados para acessar 960 sítios distribuídos ao longo de um shank de 10 mm de comprimento e  $70 \times 20 \mu\text{m}$  de seção transversal. Essa configuração permite um registro denso em um único shank, superando as sondas multieletrodo tradicionais que utilizam múltiplos shanks. A sonda inclui amplificadores, multiplexadores e conversores digitais integrados em sua base, o que proporciona transmissão digital sem ruído e permite a captura de dados de alta qualidade (Figura 13) (JUN et al., 2017).

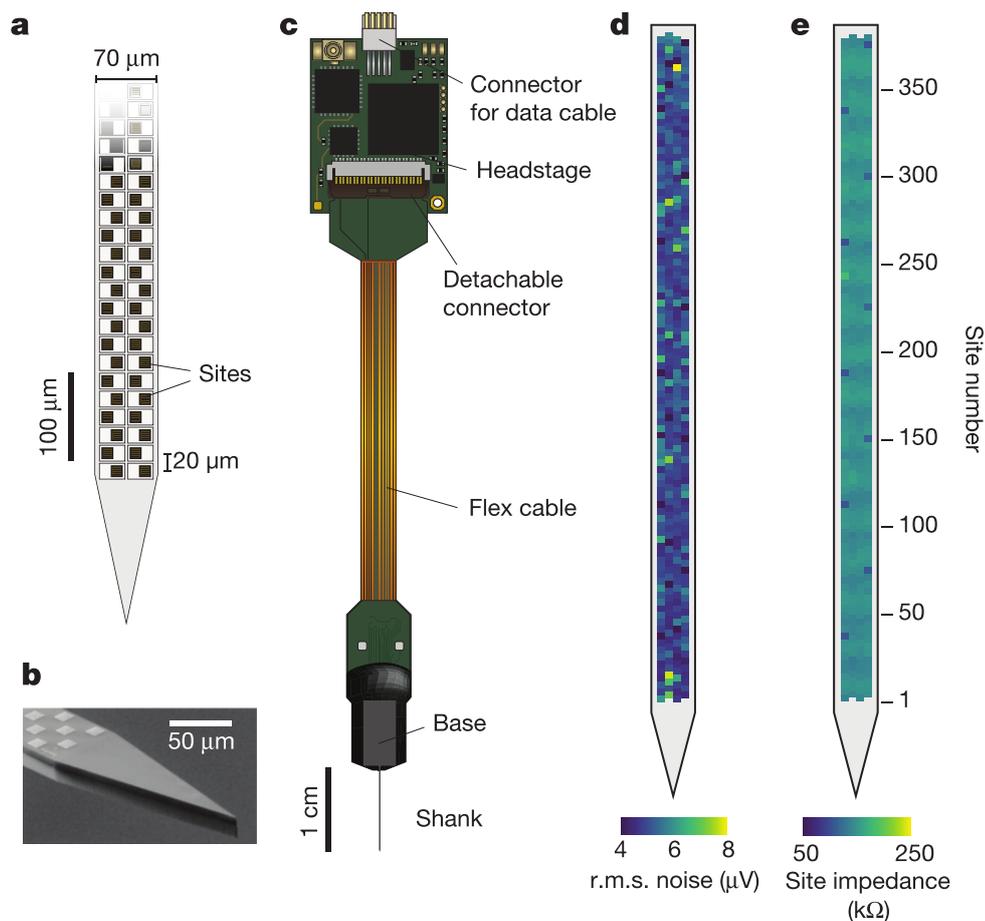


Figura 13 – **A sonda Neuropixels.** (a) Ilustração da ponta da sonda, mostrando a disposição dos locais em padrão de tabuleiro de xadrez (quadrados escuros). (b) Imagem da ponta da sonda obtida com microscópio eletrônico de varredura. (c) Embalagem da sonda, incluindo o cabo flexível e o *headstage* para transmissão bidirecional de dados. (d) Exemplo dos níveis de ruído r.m.s. da banda AP em solução salina, para 384 locais (opção comutável). Média  $\pm$  desvio padrão =  $5.1 \pm 0.6 \mu\text{V}$ . (e) Impedância típica dos locais em solução salina, para 384 locais, medida para cada local com correntes injetadas de 1 nA em frequência de 1 kHz (ver Métodos). Média  $\pm$  desvio padrão =  $149 \pm 6 \text{ k}\Omega$ . (JUN et al., 2017)

Em experimentos com camundongos e ratos, as sondas Neuropixels registraram com sucesso a atividade de centenas de neurônios ao longo de diversas estruturas cerebrais em animais acordados, fixos ou livres. Usando duas sondas, os pesquisadores capturaram a atividade de mais de 700 neurônios individuais distribuídos por cinco regiões cerebrais simultaneamente,

incluindo córtex visual, hipocampo e tálamo (Figura 14). Além disso, a alta densidade de gravação permite a identificação de bordas anatômicas entre regiões neurais com base em padrões de atividade e potenciais de campo local (LFPs), demonstrando a capacidade da sonda em diferenciar e mapear áreas funcionais com precisão. Esses avanços tornam as sondas Neuro-pixels ideais para estudar a coordenação neural em larga escala em tarefas comportamentais complexas (JUN et al., 2017).

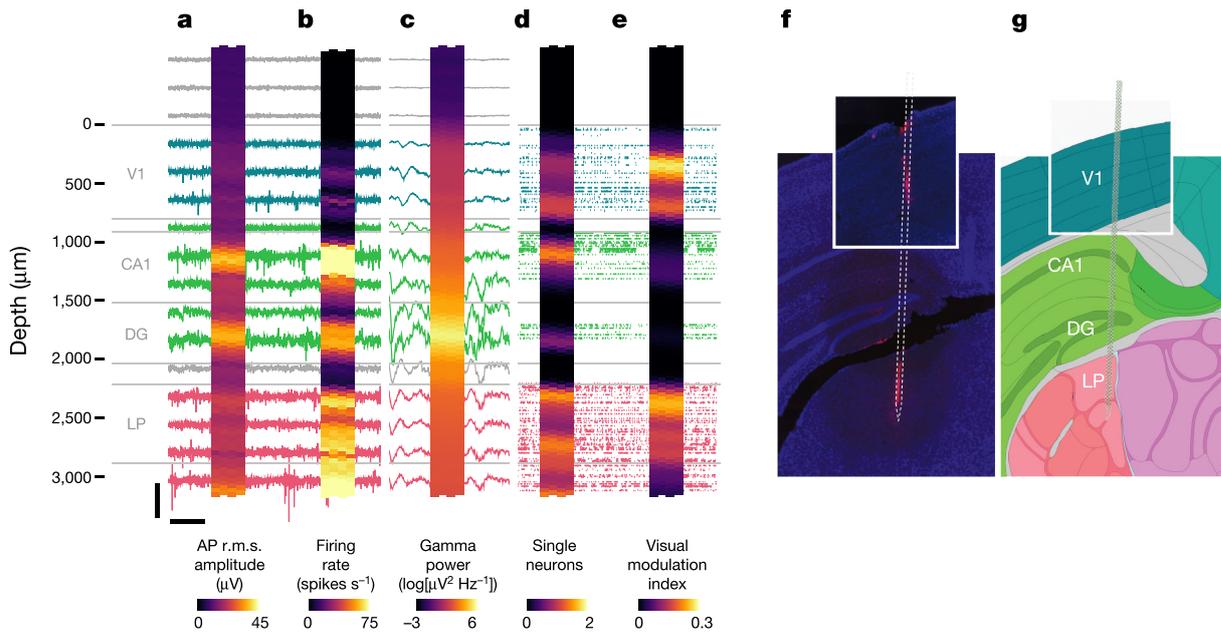


Figura 14 – Registro de grandes populações neuronais com uma única sonda em um camundongo acordado com a cabeça fixa. Os sinais foram adquiridos de uma sonda Neuropixels inserida no córtex visual primário (V1), nas regiões CA1 e giro dentado (DG) do hipocampo, e no núcleo posterior lateral (LP) do tálamo. As fronteiras aproximadas das estruturas são mostradas em cinza ao lado da escala de profundidade da sonda. Nos mapas de calor, cada quadrado representa um único sítio de gravação. **(a)** Amplitude r.m.s. do sinal na banda de potenciais de ação (AP) para intervalos de 1 segundo, com média de 10 intervalos. **(b)** Taxa de disparo medida a partir das passagens da banda AP com um limiar de  $-50 \mu\text{V}$ , em um intervalo de 10 segundos. **(c)** Potência da banda gama do LFP (35–80 Hz), calculada pelo método de Welch em um intervalo de 1 segundo, com média de 10 intervalos. **(d)** Distribuição das localizações dos neurônios únicos putativos (canal com amplitude máxima), suavizada com um filtro Gaussiano unidimensional (raio = 4,5 sítios). **(e)** Índice de modulação visual da atividade de disparo em resposta a uma estimulação visual de 20 Hz (duração de 15 segundos), para os neurônios únicos mais próximos de cada sítio de gravação, suavizado com um filtro Gaussiano unidimensional (raio = 6 sítios). Atrás dos mapas de calor, estão traçados exemplos de cada vigésimo quinto canal mostrado para a banda AP (atrás dos painéis a e b) e para a banda LFP (atrás do painel c), juntamente com exemplos de rastros de picos para todos os neurônios isolados putativos (atrás dos painéis d e e, durante a estimulação visual de cintilação);  $n = 103$  neurônios no tálamo, 41 no hipocampo e 62 no córtex. Barras de escala vertical/horizontal: banda AP (a, b),  $315 \mu\text{V}/165 \text{ ms}$ ; banda LFP (c),  $1.550 \mu\text{V}/290 \text{ ms}$ ; neurônio único (d, e), 2,6 s. **(f)** Reconstrução histológica da trajetória da sonda com coloração DAPI (azul) e Dil (vermelho). **(g)** Imagens correspondentes 81 e 82 do Atlas do Cérebro de Camundongo Allen.

No artigo de Siegle e colaboradores, o processamento de dados dos registros Neuropixels

---

envolve várias etapas essenciais, desde a aquisição até a filtragem e organização para análises subsequentes (Figura 15). Inicialmente, o sinal coletado é dividido em duas bandas distintas: a banda de picos, que captura a atividade rápida dos neurônios (*spikes*) com taxa de amostragem de 30 kHz e um filtro de alta frequência, e a banda do LFP, cuja amostragem se dá a uma taxa de 2,5 kHz e a filtragem em uma banda de baixa frequência. A banda de picos passa por uma sequência de pré-processamento que inclui subtração de medianas, filtração e etapas de *whitening* para remover ruídos e normalizar o sinal, ajudando a manter a qualidade do sinal. Em seguida, para o processamento dos picos, o sinal é preparado para a classificação de picos (*spike sorting*) com o uso do algoritmo Kilosort2, que identifica e agrupa padrões de atividade neuronal em unidades separadas. Após essa classificação inicial, os dados são organizados no formato *Neurodata Without Borders* (NWB), padrão que facilita o compartilhamento e reutilização dos dados. Finalmente, um processo de controle de qualidade é aplicado para remover unidades que não apresentem sinais claros de atividade neural, garantindo a confiabilidade dos dados para análises posteriores, como a relação entre atividade neural e comportamento (SIEGLE et al., 2021).

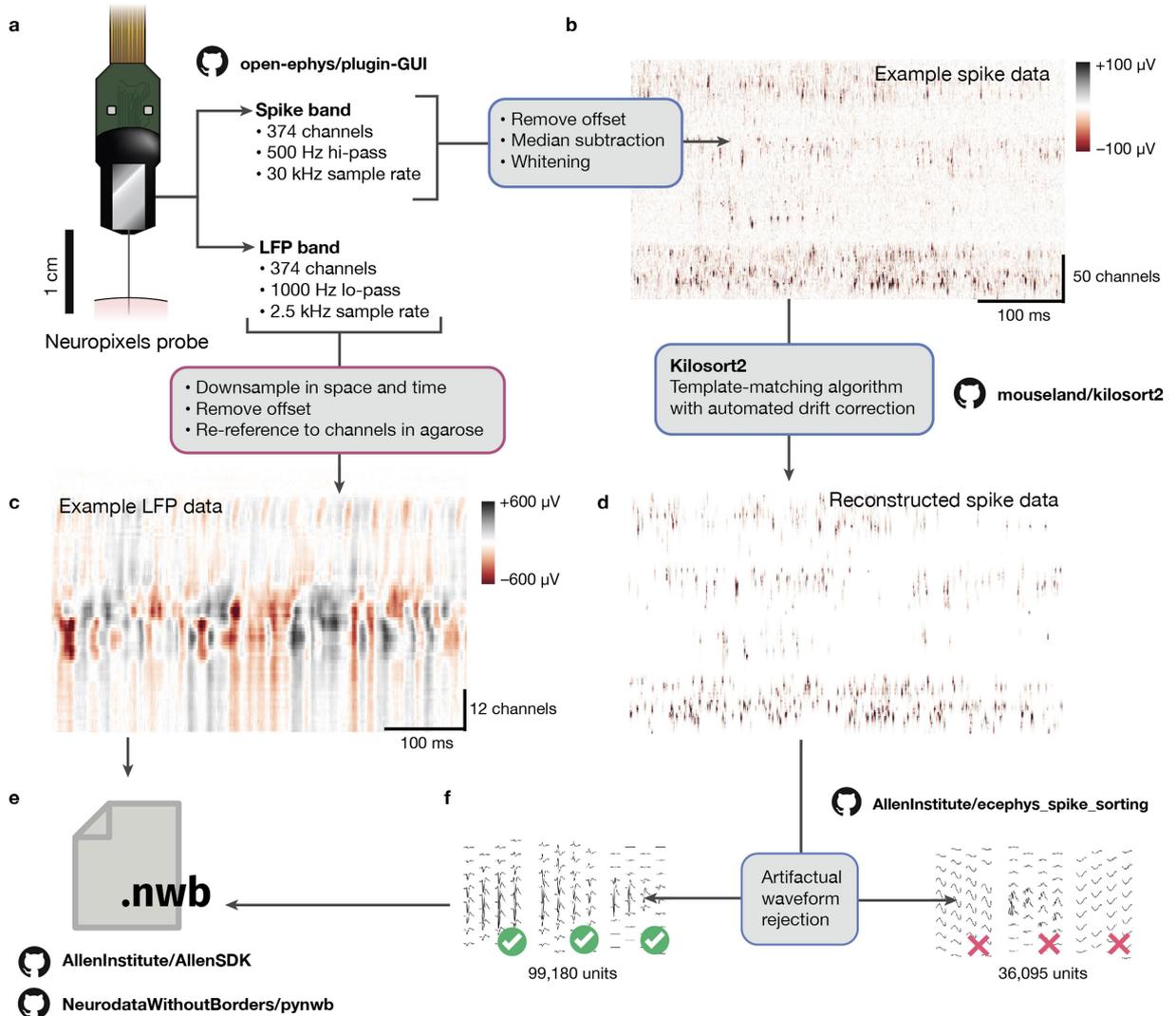


Figura 15 – **Etapas de processamento de dados.** (a) Os dados da sonda Neuropixels são divididos no nível de hardware em dois fluxos separados para cada eletrodo: banda de disparos e banda de LFP. (b) A banda de disparos passa por etapas de subtração de offset, subtração da mediana e whitening antes da classificação. Os dados resultantes podem ser visualizados como uma imagem, com dimensões de tempo e canais, e cores correspondendo aos níveis de tensão. (c) Os dados de LFP são reduzidos para 1.25 kHz e espaçamento de canal de  $40 \mu\text{m}$  antes da embalagem. (d) Usamos o Kilosort2 para combinar templates de disparo aos dados brutos. A saída desse algoritmo pode ser usada para reconstruir os dados originais usando informações sobre a forma, os tempos e as amplitudes dos templates. (e) Os dados de disparo e LFP são embalados em arquivos NWB 2.0. (f) As saídas do Kilosort2 passam por um procedimento de controle de qualidade semi-automático para remover unidades com formas de onda artefatuais. Apenas unidades com características de disparo óbvias são usadas para análises posteriores. (SIEGLE et al., 2021)

### 3 METODOLOGIA

O capítulo de metodologia deste trabalho descreve os procedimentos experimentais e analíticos adotados para investigar a codificação de recompensa no mesencéfalo por meio da base de dados pública do projeto Visual Behavior Neuropixels. O capítulo é estruturado em três seções principais. A primeira seção, intitulada **Descrição geral dos experimentos**, apresenta o projeto Visual Behavior Neuropixels e uma visão detalhada do fluxo experimental seguido no estudo, incluindo o treinamento dos camundongos e a tarefa comportamental de detecção de mudanças, que envolve estímulos visuais e recompensa com água. A segunda seção, **Visão geral dos dados**, aborda as características do conjunto de dados utilizado, destacando as condições experimentais, os diferentes genótipos de camundongos e as variáveis associadas ao nível de experiência e ao tipo de estímulo apresentado. A última seção, **Metodologia da análise dos dados**, descreve as abordagens estatísticas aplicadas à análise dos dados, incluindo a construção de histogramas de tempos peri-estímulo (PSTH), o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson e a aplicação de testes de hipótese para comparar as distribuições obtidas via dados experimentais. Cada uma dessas etapas é crucial para entender os padrões de codificação neural observados nas regiões do mesencéfalo durante a tarefa visualmente guiada, com foco na recompensa e no comportamento dos camundongos.

#### 3.1 DESCRIÇÃO GERAL DOS EXPERIMENTOS

##### 3.1.1 O projeto Visual Behavior Neuropixels

Este trabalho irá utilizar a base de dados pública do projeto [Visual Behavior Neuropixels](#), que utiliza a plataforma da Allen Brain Observatory para gravações de atividade neural de camundongos enquanto realizavam uma tarefa visualmente guiada, através de neuropixels. A base de dados contém medidas comportamentais e neurais de 81 camundongos ao longo de 153 sessões, que fornecem mais de 319 mil unidades medidas no córtex visual, tálamo, hipocampo e mesencéfalo, simultaneamente ([PROGRAM, 2022](#)). O trabalho irá focar especialmente em dados provenientes de regiões do mesencéfalo. Os dados, que incluem séries temporais, eventos comportamentais e metadados experimentais, estão compactados em arquivos do Neurodata Without Borders (NWB; Teeters et al, 2015) que podem ser acessados e analisados através do AllenSDK, um software de código aberto em Python.

O fluxo de trabalho do Allen Brain Observatory Neuropixel consiste em 8 principais etapas, descritas na Tabela 1, que preparam o animal através de cirurgias para colocação e troca de implantes, mapeamento de área visual, treinamento e posicionamento das probes. As gravações foram feitas com sondas Neuropixels 1.0, inserindo-se até 6 sondas simultaneamente em cada camundongo por até dois dias consecutivos de gravação. Após o primeiro dia de gravação, as sondas foram removidas e o camundongo foi devolvido à sua gaiola de origem. No segundo dia de gravação, as sondas foram reinseridas. As sondas foram tipicamente inseridas de 3 a 3,5 mm, resultando em 300 a 350 sítios de gravação por sonda.

<b>Etapa</b>	<b>Descrição</b>
<b>Cirurgia</b>	Implantação de um implante de estrutura de cabeça, seguida de craniotomia e durotomia, e inserção de um implante craniano de vidro transparente
<b>Mapeamento da área visual</b>	Utilização da técnica de Intrinsic Signal Imaging (ISI) para delinear os limites funcionais da área visual, a fim de viabilizar o adequado posicionamento de probes de neuropixels
<b>Treinamento</b>	Habituar camundongos a longos períodos de fixação da cabeça na roda de corrida e pré-expor os camundongos a todo o conjunto de estímulos visuais incluídos no conjunto de dados experimentais
<b>Troca do implante</b>	O implante craniano de vidro é substituído por um de plástico, com orifícios apropriados para a inserção de probes
<b>Primeira sessão</b>	Primeiro dia de gravação com neuropixels
<b>Avaliação do posicionamento das probes</b>	Remoção das probes e retorno dos camundongos para o viveiro e, em seguida, spike sort com os dados da primeira sessão e geração dos campos receptivos
<b>Segunda sessão</b>	Segundo dia de gravação com neuropixels, após análise dos campos receptivos obtidos através dos dados do primeiro dia e ajuste da colocação da probe
<b>Imagem ex vivo</b>	Recuperação de locais de gravação usando tomografia de projeção óptica

Tabela 1 – Descrição do fluxo de trabalho do Allen Observatory Neuropixel. ([SCIENCE, 2023](#))

### 3.1.2 O experimento

Inicialmente, os camundongos são submetidos a um treinamento padronizado, no qual eles primeiro aprendem a detectar mudanças de orientação usando estímulos de grades estáticas, depois passam para grades piscantes e, em seguida, aprendem a detectar mudanças na identidade de imagens de cenas naturais. Cada sessão incluiu 8 imagens, totalizando 64 transições

possíveis. As imagens utilizadas neste estudo foram um subconjunto selecionado do conjunto de estímulos de cenas naturais usado no Visual Coding Allen Brain Observatory. A tarefa está descrita na Figura 16.

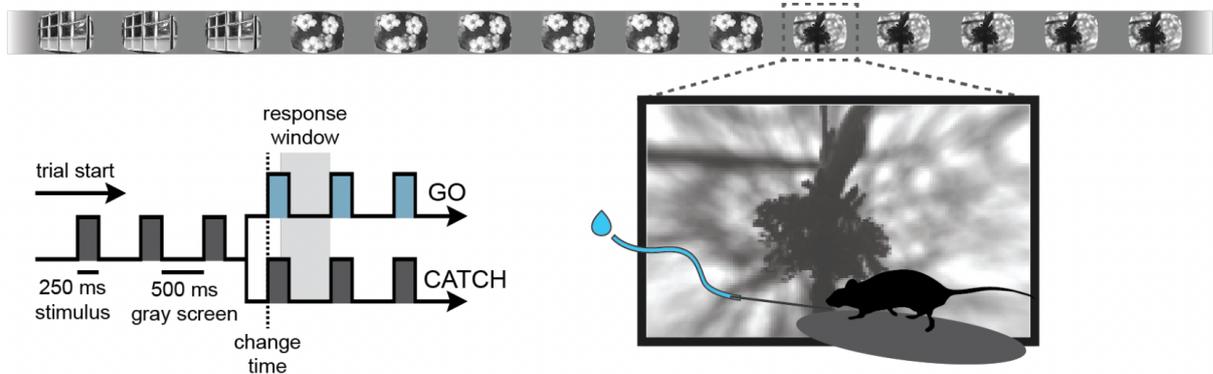


Figura 16 – **Tarefa de detecção de mudanças.** A linha superior mostra a seqüência contínua de apresentações de estímulos (250 ms por estímulo), com intervalos de tela cinza entre os estímulos (500 ms), exibidos ao camundongo durante uma sessão de comportamento. À esquerda, na parte inferior, são mostrados os dois tipos de ensaio na tarefa: ensaios "go", onde a identidade do estímulo muda e o camundongo deve lambar dentro de uma janela de resposta de 750 ms para ganhar uma recompensa de água, e ensaios "catch", onde a identidade da imagem não muda e o comportamento de lambar por alarme falso é quantificado. À direita, na parte inferior, está a configuração do experimento, com os estímulos exibidos em um monitor voltado para o olho direito do camundongo, um bico de lambar para detecção de resposta (via sensor capacitivo) e entrega de recompensa de água, e uma roda de corrida. (SCIENCE, 2023)

Uma vez que a fase de treinamento foi bem sucedida, os camundongos estarão aptos à gravação das sessões. Cada um deles passa por duas sessões experimentais com Neuropixels. Durante uma das sessões, as imagens utilizadas são as mesmas do treinamento (nível de experiência: familiar), enquanto que na outra sessão a tarefa é realizada com um conjunto novo de imagens (nível de experiência: novo). Isso permite a avaliação do impacto da novidade na codificação neural para estímulos e informações comportamentais. Cada sessão é dividida em 6 blocos, descritos na Tabela 2. Ao final de cada sessão, no último bloco, os camundongos são submetidos a uma etapa de visualização passiva, que equivale à retração do bico de lambar e, conseqüentemente, à impossibilidade de recompensa. Esse intervalo de visualização passiva permite a análise da atividade sensorial sem envolvimento na tarefa. Por fim, durante as sessões de gravação, os estímulos foram omitidos com uma probabilidade de 5%, interrompendo a cadência esperada das apresentações de imagens piscantes. As mudanças de estímulo, o estímulo imediatamente anterior à mudança e o estímulo imediatamente posterior a uma omissão nunca foram omitidos. O design experimental contendo o conjunto de imagens utilizado, o fluxo de trabalho de treinamento e de gravação, uma visão geral da sessão experimental e a

estrutura da tarefa de detecção de mudança, estão sintetizados na Figura 17. (SCIENCE, 2023)

Tabela 2 – Descrição dos Blocos

<b>Bloco</b>	<b>Descrição</b>
0	Tarefa de detecção de mudanças. Imagens naturais são apresentadas repetidamente e o camundongo é recompensado por lambe o bico quando a identidade da imagem muda.
1	Breve tela cinza.
2	Mapeamento do campo receptivo. Estímulos Gabor usados para mapeamento do campo receptivo. Para mais detalhes sobre este estímulo, consulte este caderno.
3	Tela cinza mais longa.
4	Flash de campo completo, mostrado a 80% de contraste. Os flashes podem ser pretos (cor = -1) ou brancos (cor = 1).
5	Repetição passiva. Reprodução quadro a quadro do estímulo mostrado durante a tarefa de detecção de mudanças (bloco 0), mas agora com o bico de lambe recolhido, para que o animal não possa mais participar da tarefa.

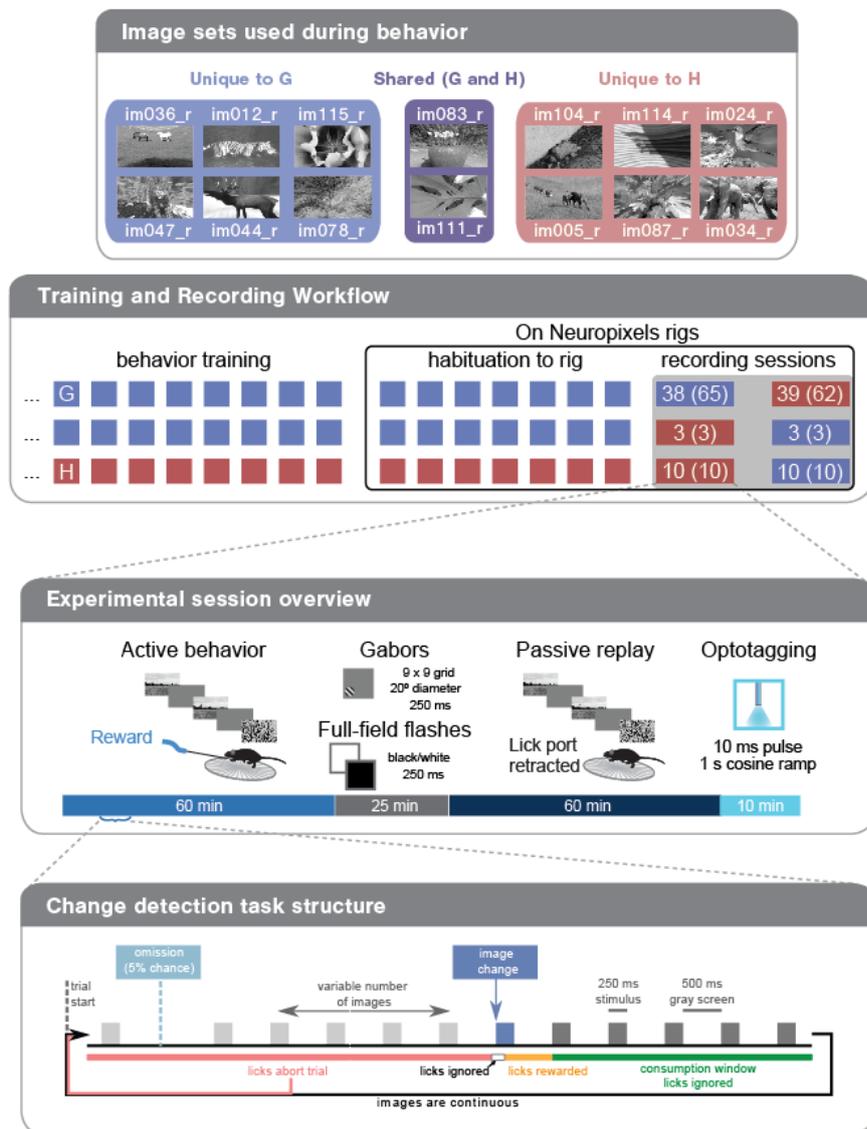


Figura 17 – **Design Experimental.** (a) Conjuntos de Imagens Usados para o Comportamento: foram utilizados dois conjuntos de imagens, G e H, ambos compostos por 8 imagens naturais. Duas imagens apareceram em ambos conjuntos, permitindo a análise da novidade do estímulo dentro da mesma sessão. (b) Fluxo de Trabalho de Treinamento e Gravação: cada camundongo foi treinado com um dos dois conjuntos de imagens (G ou H). Uma vez que o treino foi bem sucedido, eles foram habituados ao equipamento experimental. Após a habituação, a atividade neural foi registrada enquanto o camundongo realizava a tarefa de comportamento em dois dias consecutivos de gravação. Um dia de gravação usou o conjunto de imagens familiar ao camundongo do treinamento e o outro usou o conjunto de imagens novas. Os números em cada caixa indicam o número de sessões no conjunto de dados para cada trajeto de treinamento, conforme retornado pelas flags padrão do SDK. O número total de sessões disponíveis (sem filtros padrão) está entre parênteses. (c) Visão Geral da Sessão Experimental: cada sessão de gravação consistiu em 4 principais fases de estímulo: (i) comportamento ativo, durante o qual o camundongo realizou a tarefa de detecção de mudanças (bloco 0), (ii) caracterização do campo receptivo usando Gabor e flashes de campo completo (blocos 1-4), (iii) reprodução passiva, durante a qual os estímulos encontrados durante o comportamento ativo foram reproduzidos, mas sem o bico de lambe (bloco 5), e (iv) optotagging. (d) Estrutura da Tarefa de Detecção de Mudanças: Durante a tarefa, os camundongos são apresentados a uma série contínua de estímulos brevemente apresentados e ganham recompensas de água ao relatar corretamente quando a identidade da imagem muda. A cadência regular das apresentações de estímulo foi ocasionalmente interrompida por uma omissão de estímulo, que ocorreu aleatoriamente em 5% dos estímulos sem mudança. (SCIENCE, 2023)

### 3.2 VISÃO GERAL DOS DADOS

O conjunto de dados varia em genótipo, número da sessão, conjunto de imagens e nível de experiência. O projeto utilizou camundongos de 3 genótipos diferentes, sendo eles, SST, VIP e C57BL6J. As dimensões número da sessão, conjunto de imagens e nível de experiência indicam, respectivamente, o dia da sessão (primeiro ou segundo), o conjunto de imagens utilizado (G ou H) e se o conjunto de imagens mostrado na sessão era familiar ou novo. A Tabela 3 contém um resumo do número de sessões disponíveis, sem anormalidades, nas quatro dimensões do conjunto de dados descritas acima. (SCIENCE, 2023)

Número da Sessão	Conjunto de Imagens	Experiência	Genótipo		
			SST	VIP	C57BL6J
1	G	Familiar	19.0	11.0	8.0
1	H	Familiar	0.0	0.0	10.0
1	H	Novo	3.0	0.0	0.0
2	G	Familiar	3.0	0.0	0.0
2	G	Novo	0.0	0.0	10.0
2	H	Novo	18.0	11.0	10.0

Tabela 3 – Número de sessões para cada condição conforme retornado por padrão pelo SDK (sem anormalidades). (SCIENCE, 2023)

Para este trabalho, foram selecionados os camundongos do genótipo C57BL6J, que corresponde a camundongos selvagens, com nível de experiência Novo, obtendo-se 10 sessões. A partir disto, obteve-se o conjunto de dados que será utilizado, selecionando-se apenas as unidades neuronais do mesencéfalo. As áreas disponíveis na base de dados foram APN, MRN, SCig, SCiw, NOT, PPT e, por último, um conjunto de células inespecíficas do mesencéfalo, intitulado MB. A quantidade de unidades por área e por sexo está registrada na Tabela 4.

	APN	MB	MRN	SCig	SCiw	NOT	PPT	Total
<b>Masculino</b>	537	172	228	135	5	51	23	1151
<b>Feminino</b>	500	106	112	95	3	19	0	835
<b>Total</b>	1037	278	340	230	8	70	23	1986

Tabela 4 – Número de unidades do mesencéfalo por área e por sexo.

### 3.3 METODOLOGIA DA ANÁLISE DOS DADOS

Na análise dos dados, será aplicada uma metodologia que conta com ferramentas matemáticas e estatísticas, incluindo o histograma de tempos peri-estímulo (PSTH), a correlação de Pearson e testes de hipótese.

#### 3.3.1 PSTH

O PSTH é um histograma que informa a quantidade média de disparos de um neurônio em intervalos de tempo de mesmo tamanho dentro de uma janela de tempo peri-estímulo, com o estímulo ocorrendo em  $t_0$ . Ou seja, para obter a medida de PSTH, é necessário selecionar vários ensaios de tamanho  $t$  que incluam o estímulo, definir a largura  $\Delta t$  do chamado *bin size*, de modo a se obter  $\frac{t}{\Delta t}$  intervalos, e calcular a média de disparos em cada intervalo. A figura 18 é um diagrama esquemático de obtenção do PSTH. Para este trabalho, os parâmetros escolhidos foram: (i)  $t_0$  é o tempo em que ocorreu a recompensa; (ii) o tamanho da amostra foi de 2.5 s, com início em  $t_0 - 0.5$  s e término em  $t_0 + 2$  s; e (iii) o *bin size* selecionado foi de 20 ms.

#### 3.3.2 Coeficiente de correlação de Pearson

O coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) mede o grau de correlação entre duas variáveis, avaliando intensidade e direção de relações lineares. Calcula-se o coeficiente através da seguinte expressão:

$$\rho = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} = \frac{\text{cov}(X, Y)}{\sqrt{\text{var}(X) \cdot \text{var}(Y)}}$$

em que  $n$  é a quantidade de medidas de cada variável,  $x_i$  é o  $i$ -ésimo valor medido da variável  $X$ ,  $y_i$  é o  $i$ -ésimo valor medido da variável  $Y$ , e  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$  são as médias aritméticas de ambas variáveis. O valor do coeficiente varia entre -1 e 1. O sinal indica a direção da correlação (positiva ou negativa) e o módulo indica a intensidade ou força. A interpretação do valor do coeficiente está na Tabela 5.

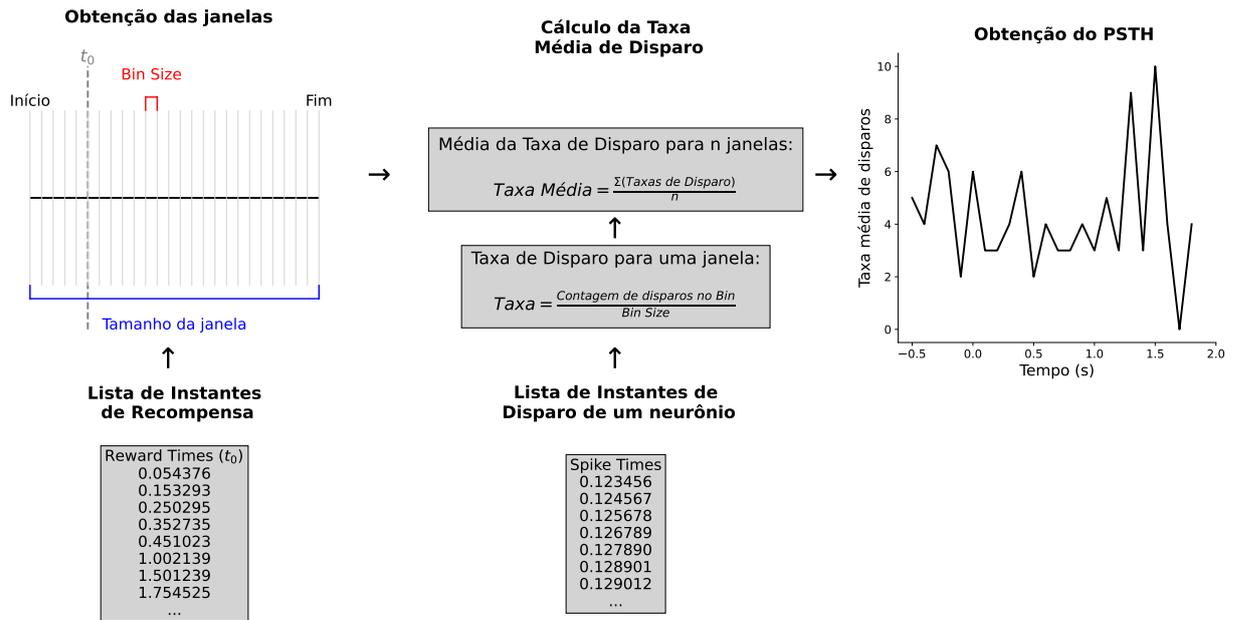


Figura 18 – **Metodologia de obtenção do PSTH.** A partir da lista de instantes de recompensa, são obtidas as janelas de tempo, com os tamanhos de largura da janela e de *bin* pré-estabelecidos. O início da janela ocorre em  $t_0 - 0.5$  s e o fim da janela, em  $t_0 + 2$  s. Em seguida, utiliza-se a lista de instantes de disparo de uma unidade para contar quantas vezes um neurônio disparou em cada *bin*, para cada janela. Ao final, calcula-se a média de disparo em cada *bin*, considerando todas as janelas, ou seja, todos os instantes de recompensa do neurônio. O resultado final é um histograma da quantidade média de disparos do neurônio em torno do estímulo, o PSTH, que pode ser visualizado graficamente.

Intervalo do Coeficiente	Força da Correlação	Direção da Correlação
$0.9 \leq  r  \leq 1$	Muito Forte	Positiva (+) ou Negativa (-)
$0.7 \leq  r  < 0.9$	Forte	Positiva (+) ou Negativa (-)
$0.5 \leq  r  < 0.7$	Moderada	Positiva (+) ou Negativa (-)
$0.3 \leq  r  < 0.5$	Fraca	Positiva (+) ou Negativa (-)
$0 \leq  r  < 0.3$	Desprezível	Positiva (+) ou Negativa (-)

Tabela 5 – Interpretação do Coeficiente de Pearson.

### 3.3.3 Testes de hipótese

Na metodologia do trabalho, foram empregados testes de hipóteses para analisar a normalidade dos dados e comparar grupos independentes. O Teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade das distribuições dos dados. O teste de Shapiro-Wilk testa a hipótese nula de que uma amostra  $x_1, \dots, x_n$  veio de uma população normalmente distribuída. Assim, se o valor  $p$  for menor que o nível de significância  $\alpha$  escolhido (aqui, escolhe-se  $\alpha < 0.05$ ),

---

a hipótese nula é rejeitada e há evidências de que os dados testados não são normalmente distribuídos. Por outro lado, se o valor de  $p$  for maior do que o nível de significância escolhido, a hipótese nula (de que os dados vieram de uma população normalmente distribuída) não pode ser rejeitada. Caso o teste indique que os dados não seguem uma distribuição normal, isso sugere a utilização de métodos estatísticos não paramétricos, que não assumem a normalidade dos dados, para a comparação entre populações diferentes. A partir dessa análise, é possível definir a adequação de testes estatísticos subsequentes, garantindo que as suposições necessárias sejam atendidas para a validade das conclusões.

Diante da confirmação de que os dados estudados não seguem uma distribuição normal, o Teste de Mann-Whitney foi aplicado para comparar duas amostras independentes. Este teste não paramétrico é uma alternativa robusta ao teste  $t$  de Student para amostras independentes, especialmente quando as suposições de normalidade não são atendidas. A hipótese nula, neste caso, é de que as duas amostras seguem a mesma distribuição. O Teste de Mann-Whitney pode ser aplicado em três contextos distintos: o teste bilateral, que avalia se há uma diferença significativa entre as medianas de duas amostras, e os testes unilaterais, que incluem o teste unilateral superior (ou maior que), que verifica se a mediana da primeira amostra é maior do que a da segunda, e o teste unilateral inferior (ou menor que), que avalia se a mediana da primeira amostra é menor do que a da segunda. Em todos os casos, a hipótese nula é rejeitada para  $p < \alpha$ , sendo que também será utilizado um nível de significância  $\alpha = 0.05$  nas análises que utilizam este teste.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, serão apresentados os resultados deste trabalho sob o olhar de duas principais distribuições: (i) distribuições de taxas de disparo; e (ii) distribuições de correlação, tanto de PSTH quanto de registros de atividade espontânea.

As distribuições de taxas de disparo neuronal possibilitam o estudo funcional de várias áreas do cérebro, incluindo córtex, hipocampo e medula espinhal (MIZUSEKI; BUZSÁKI, 2013; BUZSÁKI; MIZUSEKI, 2014; LINDÉN; BERG, 2021). O estudo dessas distribuições é motivado pela importância de algumas características estabelecidas pela literatura, como a assimetria e homeostasia destas. A natureza assimétrica das distribuições de taxas de disparo neuronal é uma descoberta consistente em diversos estados e regiões cerebrais e pode ser atribuída à não-linearidade da curva f-I (curva de frequência-corrente), influenciada pela atividade sináptica em andamento (MIZUSEKI; BUZSÁKI, 2013; ROXIN et al., 2011). A prevalência de distribuições assimétricas em diversos parâmetros cerebrais sugere um aspecto fundamental da organização e caracterização da complexidade do cérebro, sugerindo que características anatômicas e fisiológicas no cérebro apresentam variações assimétricas que não podem ser resumidas por uma única média (BUZSÁKI; MIZUSEKI, 2014). Além disso, estudos recentes demonstraram uma capacidade do cérebro de manter uma taxa de disparo estável para seus neurônios (homeostasia), mesmo diante de entradas flutuantes, no córtex visual de roedores (HENGEN et al., 2013).

### 4.1 DISTRIBUIÇÃO DAS TAXAS DE DISPARO NO ENCÉFALO

As distribuições das taxas de disparo de neurônios nas sessões estudadas foram obtidas para Córtex, Hipocampo, Mesencéfalo e Tálamo. Primeiramente, foram obtidas as medidas de tendência central e de dispersão de cada uma das distribuições. A média e desvio-padrão no mesencéfalo ( $11,51 \pm 14,33$ ) indicaram uma maior variabilidade quando comparadas com as outras regiões do encéfalo, o córtex ( $5,24 \pm 5,53$ ), o hipocampo ( $6,77 \pm 8,22$ ) e o tálamo ( $9,04 \pm 9,87$ ). As medianas de taxa de disparo ao longo do córtex, do hipocampo, do mesencéfalo e do tálamo são, respectivamente, 3,60, 4,28, 5,83 e 6,83. Em seguida, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a hipótese de normalidade dessas distribuições, obtendo-se  $p \ll 0,01$  para todas as ocasiões. A partir disso, performou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, de modo que o mesencéfalo apresentou a mediana da taxa de disparo maior

que as do córtex e do hipocampo, com  $p \ll 0,01$  (teste bilateral), mas mantendo-se a hipótese nula de que o tálamo possui a mediana igual a do mesencéfalo ( $p = 0,22$  para o teste unilaterial). O Boxplot para cada uma das regiões do encéfalo está registrado na Figura 19. Deve-se destacar, portanto, a ampla magnitude das medidas de tendência central e de dispersão do mesencéfalo quando comparadas aos parâmetros das demais regiões do encéfalo, sugerindo a possível relevância desta área na codificação de recompensa e motivando o aprofundamento do trabalho no mesencéfalo.

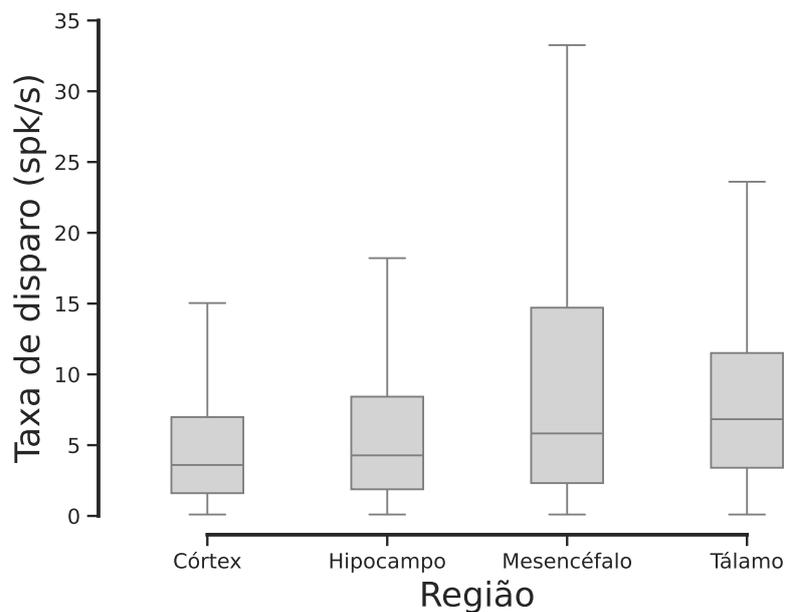


Figura 19 – **Distribuição das taxas de disparo dos neurônios do córtex, hipocampo, mesencéfalo e tálamo.** As medianas de taxa de disparo ao longo do córtex, do hipocampo, do mesencéfalo e do tálamo são, respectivamente, 3,60, 4,28, 5,83 e 6,83. O destaque para distribuição de taxas de disparo no mesencéfalo se dá no cálculo das médias e desvios-padrões, resultando em  $11,51 \pm 14,33$ , que demonstra uma variabilidade maior quando comparada às distribuições do córtex ( $5,24 \pm 5,53$ ), hipocampo ( $6,77 \pm 8,22$ ) e tálamo ( $9,04 \pm 9,87$ ). Considerando um nível de significância de 0,05, o teste de Shapiro-Wilk indicou que as quatro distribuições não possuem característica de normalidade ( $p \ll 0,01$ ). Por isso, realizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, possibilitando afirmar que as distribuições das taxas de disparo do córtex e do hipocampo são menores que a distribuição do mesencéfalo ( $p \ll 0,01$ ), mas mantendo-se a hipótese de que o tálamo possui distribuição igual a do mesencéfalo ( $p = 0,22$ ).

## 4.2 DISTRIBUIÇÃO DAS TAXAS DE DISPARO NO MESENCÉFALO

Para uma análise mais detalhada do mesencéfalo, estudaram-se as distribuições de taxas de disparo ao longo de distintas áreas, sendo elas: Núcleo Pré-tetal Anterior (APN), Células Inespecíficas do Mesencéfalo (MB), Núcleo Reticular do Mesencéfalo (MRN), Camada Intermediária de Substância Cinzenta do Colículo Superior (SCig), Camada Intermediária de Substância

Branca do Colículo Superior (SCiw), Núcleo do Trato Óptico (NOT) e Núcleo Pré-tetal Posterior (PPT). As médias obtidas para cada uma delas foi, na ordem:  $12,76 \pm 14,28$  ( $n = 1037$ ),  $12,98 \pm 18,95$  ( $n = 278$ ),  $9,26 \pm 12,12$  ( $n = 340$ ),  $7,81 \pm 11,32$  ( $n = 230$ ),  $6,33 \pm 5,49$  ( $n = 8$ ),  $11,08 \pm 11,49$  ( $n = 70$ ) e  $10,88 \pm 7,74$  ( $n = 23$ ).

Apesar das médias das áreas APN e MB serem próximas, as medianas dessas regiões são bastante distantes (7,28 e 4,61), de modo que, a partir do teste de Mann-Whitney, a hipótese de igualdade entre estas duas distribuições foi descartada ( $p < 0,01$ ). Além disso, também foi descartada a igualdade entre a distribuição do APN e outras áreas (MRN, com 4,66, e SCig, com 3,69), todas com  $p \ll 0,01$ . Esses resultados sugerem que as unidades desta região disparam mais que as das outras, em média. O teste de hipótese para as demais regiões (SCiw, NOT e PPT, de medianas 5,31, 6,46 e 8,61) não descartou a igualdade entre as suas medianas e a da APN, sendo que, em todas elas,  $n \leq 70$ . O Boxplot para cada uma das regiões do mesencéfalo está registrado na Figura 20.

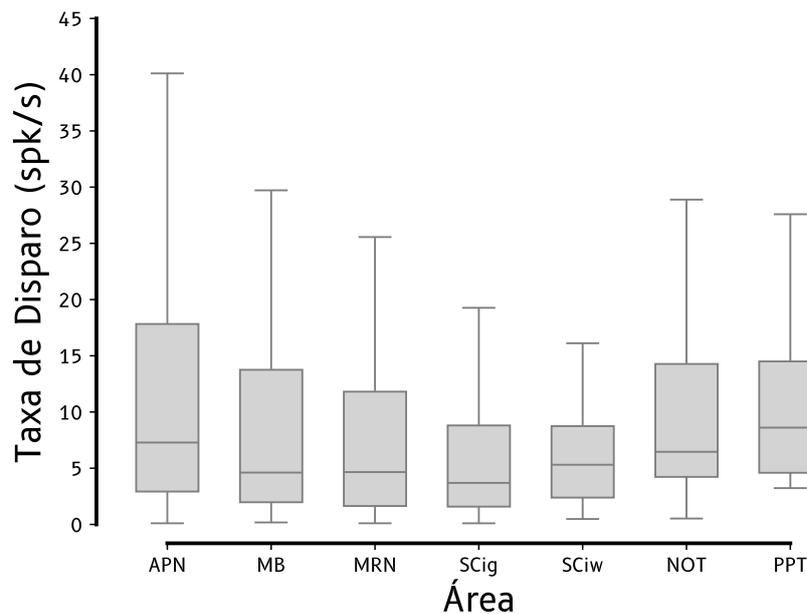


Figura 20 – **Distribuição de taxas de disparo ao longo das áreas do mesencéfalo.** As áreas com maior média são APN e MB, obtendo-se  $12,76 \pm 14,28$  ( $n = 1037$ ) e  $12,98 \pm 18,95$  ( $n = 278$ ), respectivamente. As menores médias calculadas foram  $7,81 \pm 11,32$  ( $n = 230$ ) e  $6,33 \pm 5,49$  ( $n = 8$ ), que correspondem, na ordem, às áreas SCig e SCiw. O MRN, o NOT e o PPT possuem médias intermediárias, sendo elas:  $9,26 \pm 12,12$  ( $n = 340$ ),  $11,08 \pm 11,49$  ( $n = 70$ ) e  $10,88 \pm 7,74$  ( $n = 23$ ), na ordem. Apesar das médias das áreas APN e MB serem próximas, suas medianas são bastante distantes (7,28 e 4,61), de modo que, a partir do teste de Mann-Whitney, a hipótese de igualdade entre elas foi descartada ( $p < 0,01$ ). Também foi descartada a igualdade entre a mediana do APN e outras áreas (MRN e SCig), todas com  $p \ll 0,01$ . O teste de hipótese para as demais regiões (SCiw, NOT e PPT) não descartou a igualdade entre as suas medianas e a da APN, sendo que, em todas elas,  $n \leq 70$ .

Quando a análise é feita por sexo, a taxa de disparo média ao longo de todo o mesencéfalo para o sexo feminino é de  $11,63 \pm 14,46$  e para o masculino,  $11,41 \pm 14,21$ . O teste de Mann-Whitney bilateral foi realizado, obtendo-se um  $p$ -valor de 0,71, sugerindo que não há evidência estatística para descartar que as medianas destas distribuições são iguais. Além disso, a distribuição de taxas de disparo de neurônios foi dividida por sexo ao longo das regiões disponíveis, obtendo-se o Boxplot na Figura 21. A hipótese de que as medianas da distribuição por sexo são iguais não é descartada para as seguintes áreas do mesencéfalo: APN, MB, MRN, SCiw e NOT, com  $p \geq 0,20$ . Especificamente no SCiw e no NOT, o resultado não é de grande relevância, visto que o número de amostras para cada sexo é pequeno. No caso do SCiw  $n = 5$  para o sexo masculino e  $n = 3$  para o sexo feminino, enquanto que no NOT,  $n = 51$  e  $n = 19$ , na ordem. Na área PPT, não foi possível realizar o teste de Mann-Whitney, visto que não há amostras para o sexo feminino. A única área com resultado intrigante foi a SCig, cujas distribuições de sexo feminino e masculino foram tidas como diferentes pelo teste de Mann-Whitney, com  $p = 0,03$ , contendo um número de amostras razoável ( $n = 135$  para o sexo feminino e  $n = 95$  para o masculino).

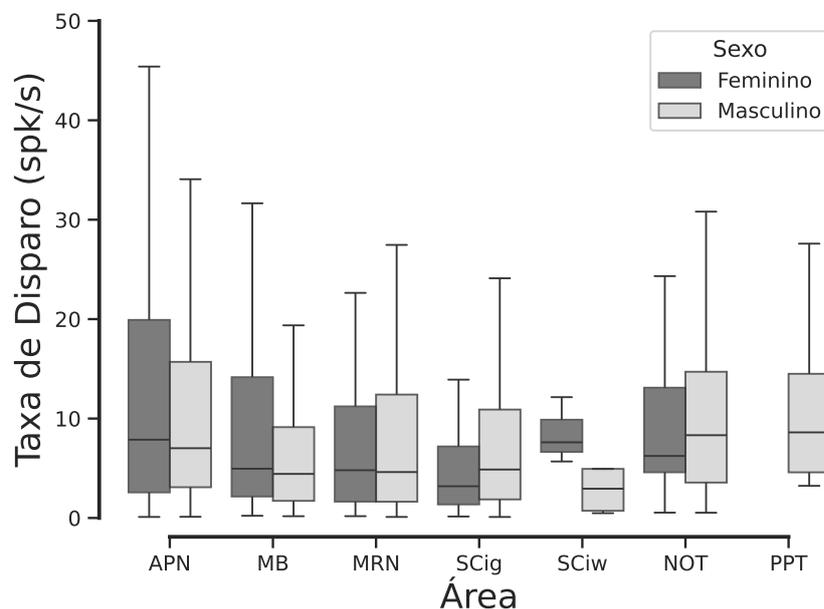


Figura 21 – **Distribuição de taxas de disparo ao longo das áreas do mesencéfalo, por sexo.** A hipótese de que os pares de distribuições do sexo feminino e do sexo masculino em cada área são iguais não é descartada para as seguintes áreas do mesencéfalo: APN, MB, MRN, SCiw e NOT, com  $p \geq 0,20$ . Especificamente no SCiw e no NOT, o resultado não é de grande relevância, visto que o número de amostras para cada sexo é pequeno. Na área PPT, não foi possível realizar o teste de Mann-Whitney, visto que não há amostras para o sexo feminino. No caso da SCig, as distribuições de sexo feminino e masculino foram tidas como diferentes pelo teste de Mann-Whitney, com  $p = 0,03$ , contendo um número de amostras razoável ( $n = 135$  para o sexo feminino e  $n = 95$  para o masculino).

Outro aspecto analisado neste trabalho foi a comparação das distribuições de taxas de disparo durante a execução da tarefa com e sem recompensa, equivalentes aos blocos 0 e 5 do experimento. A taxa média de disparo no mesencéfalo durante a execução da tarefa com recompensa ( $10,98 \pm 15,24$ ) se mostrou inferior àquela registrada no bloco sem recompensa ( $12,14 \pm 15,88$ ). Para investigar mais a fundo esta premissa, performou-se o teste de Mann-Whitney, cujo resultado apontou a distinção entre as distribuições estudadas, com dominância das taxas médias de disparo no bloco 5. Este desfecho pode indicar uma função moduladora destas áreas do mesencéfalo na codificação de recompensa, sendo relevante para ajuste da motivação sob erros de previsão. Por outro lado, é importante destacar que este resultado vai de encontro com os experimentos conduzidos por Schultz e colaboradores (SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997), em que a taxa de disparo era reduzida em erros de previsão.

A Figura 22 exibe o *boxplot* para as distribuições de taxa de disparo cada uma das áreas do mesencéfalo durante a tarefa, com e sem recompensa (blocos 0 e 5 da sessão experimental, respectivamente). O teste de Mann-Whitney foi aplicado para cada área, testando a igualdade das distribuições de taxa de disparo nos dois blocos analisados. Apenas nas regiões APN e MB descartou-se a hipótese nula ( $p < 0,01$ ), o que leva à conclusão de que essas duas áreas são as responsáveis pela desigualdade atestada ao longo de todo mesencéfalo, acumulando um total de pouco mais de 1300 unidades (66,7% do total de unidades no mesencéfalo). Em todas as outras regiões obtivemos  $p > 0,05$ , mantendo-se a hipótese de igualdade entre as duas distribuições. O VTA, peça sabidamente importante para a codificação de recompensa (KANDEL et al., 2021), é localizado no MRN, região à parte do APN, o que faz levantar questionamentos sobre o papel específico que esta região pode ter na codificação de recompensa.

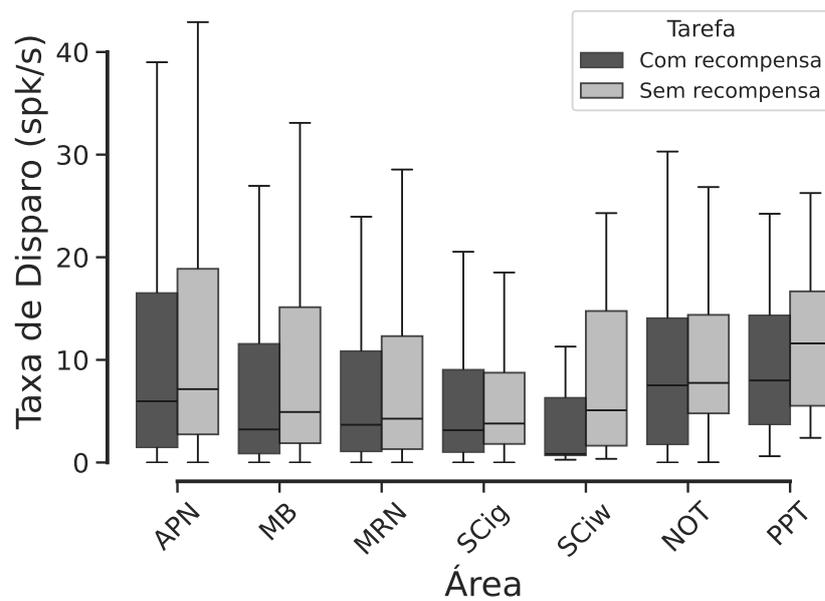


Figura 22 – **Distribuição de taxas de disparo ao longo do mesencéfalo durante a tarefa, com e sem recompensa, para as diferentes áreas estudadas.** A figura apresenta os *boxplots* correspondentes às áreas do mesencéfalo. Foi aplicado o teste de Mann-Whitney em cada região, verificando a igualdade entre as distribuições de taxas de disparo nos dois blocos avaliados. Apenas nas áreas APN e MB houve rejeição da hipótese nula ( $p < 0,01$ ), indicando que essas regiões são as principais responsáveis pelas diferenças observadas no mesencéfalo como um todo, somando mais de 1300 unidades (66,7% das unidades totais). Em todas as outras áreas, os valores de  $p$  foram maiores que 0,05, sugerindo que as distribuições entre os blocos são equivalentes.

#### 4.3 DISTRIBUIÇÃO DA CORRELAÇÃO DO PSTH NO MESENCÉFALO

Nesta seção de resultados, serão estudadas as distribuições de correlação de PSTH no mesencéfalo e disponibilizados alguns exemplos de PSTH que apresentaram as maiores correlações com referência previamente geradas. Estas referências são modelos de PSTH que emulam o aumento da atividade antes, durante e após o estímulo, que serão chamadas, em ordem, referências *pré*, *durante* e *pós*. O cálculo da correlação de Pearson destas com as unidades do mesencéfalo permite estudar a codificação de recompensa nesta região anatômica sob o ponto de vista do neurônio, diferentemente das seções anteriores, em que a taxa de disparo é o objeto de estudo, refletindo-se o comportamento médio da população de neurônios.

A partir disso, estão disponíveis na Figura 23 exemplos de PSTH de unidades do mesencéfalo de cada uma das áreas disponíveis, especificamente os que apresentaram as maiores correlações positivas com as respectivas referências. Na primeira linha, são visualizadas as referências geradas para emular um aumento da taxa de disparo antes, durante e depois do estímulo, que equivalem às referências *pré*, *durante* e *pós*, da esquerda para a direita. Em

cada uma das colunas, a partir da segunda linha, é que se observam, de fato, os resultados de PSTH para os neurônios que apresentaram maior correlação com a referência da mesma coluna, nas áreas MB, SCig, APN, MRN e no mesencéfalo como um todo. As demais áreas foram omitidas devido à pequena quantidade de unidades, informação contida na Tabela 4.

Na Figura 24 estão descritas as distribuições de correlação de unidades do mesencéfalo com as referências produzidas, com divisão por cada área disponível. Ao olhar para o mesencéfalo como um todo, as médias das correlações de cada unidade com as referências *pré*, *durante* e *pós* ficaram em  $0.08 \pm 0.31$ ,  $0.004 \pm 0.27$  e  $-0.01 \pm 0.20$ . As regiões APN, MB, MRN e SCig apresentaram uma quantidade razoável de unidades ( $n > 200$ ). Para todos estes, o módulo da média da correlação com todas as três referências é menor que 0.1, sendo que para a área MRN, a média das correlações com a referência *pré* ficou em  $0.12 \pm 0.35$ . Por outro lado, NOT, PPT e SCiw têm poucas unidades ( $n \leq 70$ ), de modo a comprometer a robustez da análise. De qualquer forma, para estas regiões, os módulos das médias ficaram todas abaixo de 0.22. Estes resultados sugerem que o mesencéfalo, apesar de participar da codificação de recompensa, possui uma distribuição de unidades com média nula, com alta concentração de unidades com correlação desprezível ou fraca em relação às referências estudadas.

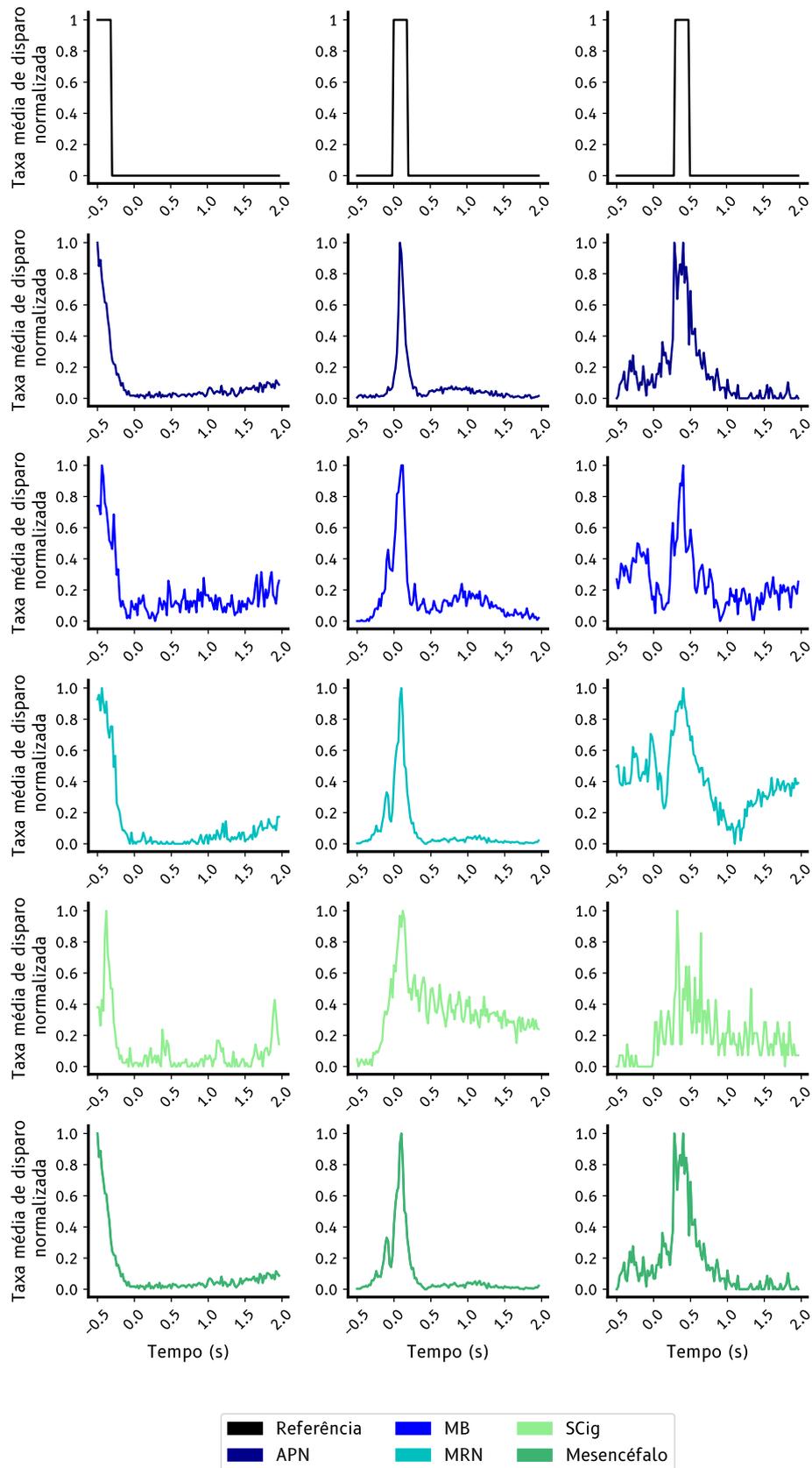


Figura 23 – PSTH de neurônios de maior correlação com as referências de PSTH. Na primeira linha, são visualizadas as referências *pré*, *durante* e *pós*. Em cada uma das colunas, a partir da segunda linha, observam-se os resultados de PSTH para os neurônios que apresentaram maior correlação com a referência da mesma coluna, nas áreas MB, SCig, APN, MRN e no mesencéfalo como um todo. As demais áreas foram omitidas devido à pequena quantidade de unidades.

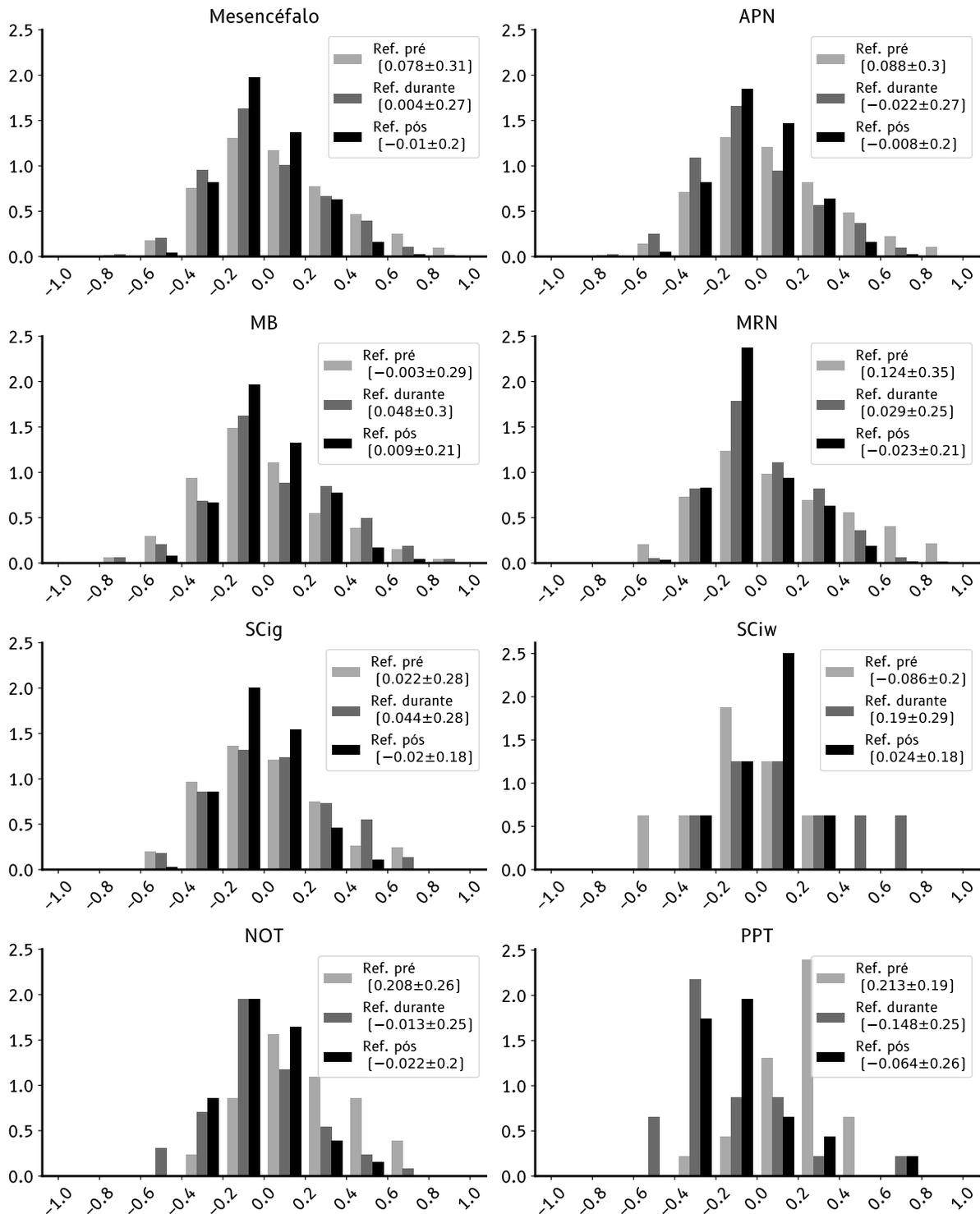


Figura 24 – Distribuições de correlação do mesencéfalo e das diferentes áreas do mesencéfalo para modelos de PSTH que emulam o aumento da atividade antes, durante e após o estímulo. Na legenda de cada gráfico, está descrita média  $\pm$  desvio-padrão da distribuição da correlação com cada referência. O mesencéfalo e as suas áreas APN, MB, MRN e SCig apresentaram uma quantidade razoável de unidades ( $n > 200$ ), com valores de média das correlações baixos, sugerindo que, em média, não codificam recompensa. Por outro lado, NOT, PPT e SCiw têm poucas unidades ( $n \leq 70$ ), de modo a comprometer a robustez da análise.

#### 4.4 ESTRUTURA DE CORRELAÇÃO NA ATIVIDADE ESPONTÂNEA

A partir dos resultados da distribuição de correlação do PSTH no Mesencéfalo, foi proposta a verificação da estrutura de correlação de 6 diferentes grupos de unidades do mesencéfalo durante a atividade espontânea, que é referente ao bloco 3 do experimento. Estes 6 grupos levam em consideração as maiores correlações positivas e negativas com cada referência estudada na seção 4.3 e estão descritos na Tabela 6, indicando-se a quantidade de unidades elegíveis para cada grupo e o percentual com relação ao número total de unidades. Após a seleção dos grupos, foram construídas matrizes de correlação para cada sessão e a distribuição das correlações obtidas foram organizadas na Figura 25. A fim de comparação, a distribuição de correlação para todas as unidades do mesencéfalo está ilustrada em todos os gráficos da Figura 25 e, em cada um deles, está contido um *inset* com a referência à qual está associado o grupo estudado.

<b>Grupo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Quantidade de Unidades</b>
<b>1</b>	Unidades que apresentaram correlações positivas maiores que 0.5 de seu PSTH com a referência pré	198 (10.0%)
<b>2</b>	Unidades que apresentaram correlações positivas maiores que 0.5 de seu PSTH com a referência durante	115 (5.8%)
<b>3</b>	Unidades que apresentaram correlações positivas maiores que 0.5 de seu PSTH com a referência pós	23 (1.2%)
<b>4</b>	Unidades que apresentaram correlações negativas menores que -0.3 de seu PSTH com a referência pré	172 (8.7%)
<b>5</b>	Unidades que apresentaram correlações negativas menores que -0.3 de seu PSTH com a referência durante	216 (10.9%)
<b>6</b>	Unidades que apresentaram correlações negativas menores que -0.3 de seu PSTH com a referência pós	100 (5.0%)

Tabela 6 – Grupos de unidades com maiores correlações positivas utilizados na análise de correlação na atividade espontânea.

O histograma base, que é a curva com a estrutura da correlação para todas as unidades do mesencéfalo em atividade espontânea, apresentou uma média de  $0,006 \pm 0,052$  e o p-valor para o teste de Shapiro-Wilk  $p \ll 0,001$ , descartando-se a hipótese nula de normalidade. Todos os 6 grupos também apresentaram  $p \ll 0,001$  para o mesmo teste estatístico, com médias iguais a, respectivamente,  $0,047 \pm 0,110$ ,  $0,024 \pm 0,073$ ,  $0,010 \pm 0,086$ ,  $0,035 \pm 0,075$ ,  $0,025 \pm 0,081$  e  $0,018 \pm 0,073$ . Em todos os casos, o número de neurônios que se enquadraram nos critérios

de cada grupo superou a casa das 100 unidades, exceto no grupo 3, em que houveram apenas 23 unidades com correlação positiva maior que 0,5 para a referência *pós*, comprometendo a robustez de sua análise. Para os demais grupos (1, 2, 4, 5 e 6), foi performado o teste de Mann-Whitney sob a hipótese alternativa de que suas distribuições são maiores que a distribuição de correlações para todo o mesencéfalo, descartando-se a hipótese nula para todos, com  $p \ll 0,01$ . Além disso, é notável que as distribuições de todos os grupos possuem uma cauda sutilmente mais longa à direita quando se compara com a distribuição base, indicando maior relevância de valores maiores que zero nessas distribuições. Desta forma, pode-se afirmar que as unidades que apresentaram maiores correlações com as referências estão mais correlacionadas entre si durante a atividade espontânea quando comparamos com a distribuição de correlações ao longo de todo o mesencéfalo.

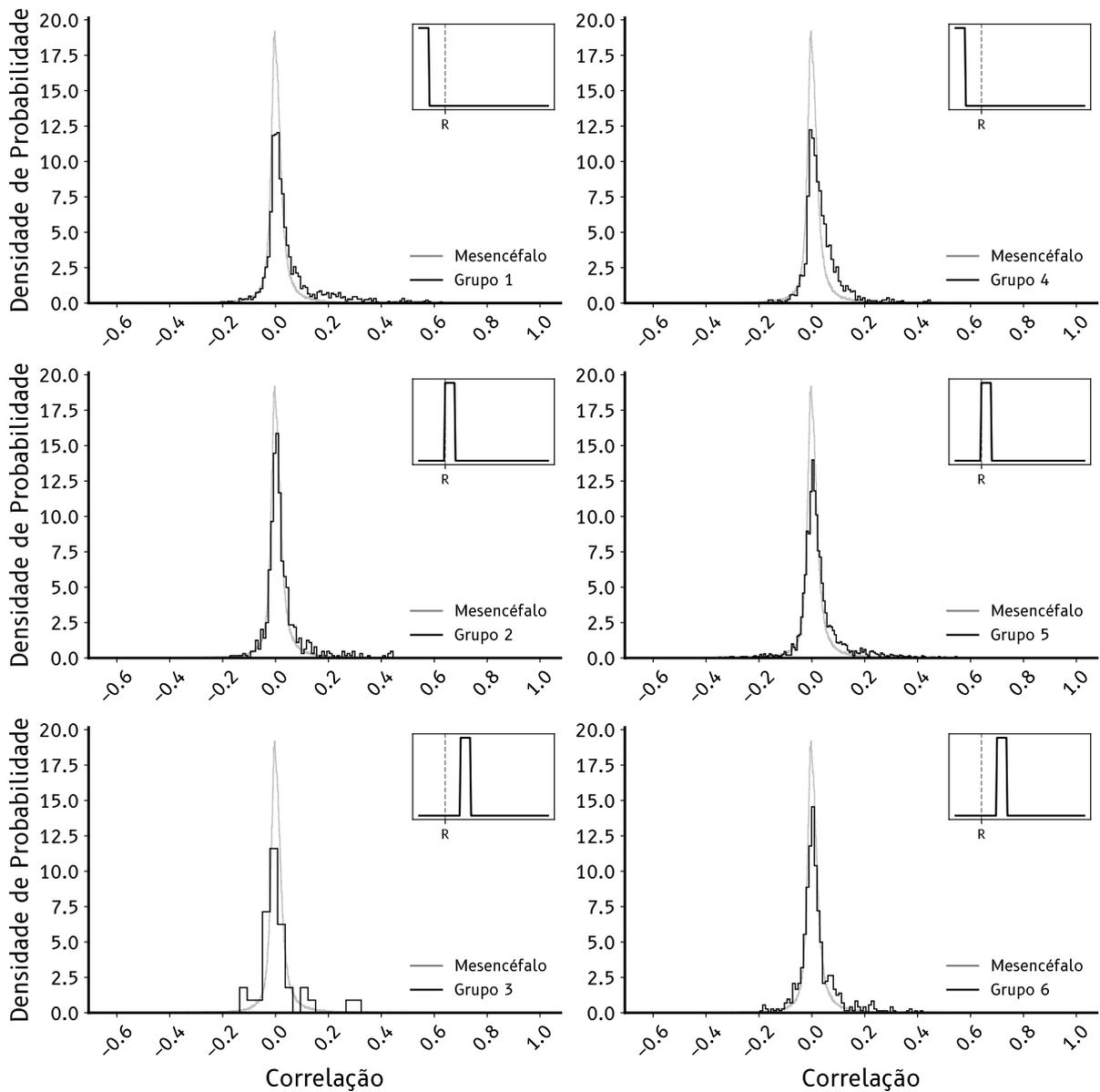


Figura 25 – **Distribuições de correlação no mesencéfalo durante a atividade espontânea.** A figura apresenta as distribuições das matrizes de correlação construídas para os 6 grupos de unidades neuronais selecionados com base nas maiores correlações positivas e negativas com cada referência. Em cada painel, a distribuição de correlação para todas as unidades do mesencéfalo (histograma base) está representada para comparação, exibindo uma curva simétrica com característica de normalidade descartada pelo teste de Shapiro-Wilk, com  $p \ll 0,001$  e média  $0,006 \pm 0,052$ . Os grupos 1, 2, 4, 5 e 6 apresentaram distribuições significativamente maiores que a distribuição geral, conforme evidenciado pelo teste de Mann-Whitney ( $p \ll 0,01$ ), e suas médias foram, respectivamente:  $0,047 \pm 0,110$ ,  $0,024 \pm 0,073$ ,  $0,035 \pm 0,075$ ,  $0,025 \pm 0,081$  e  $0,018 \pm 0,073$ . O grupo 3 apresentou uma menor robustez na análise devido ao número reduzido de neurônios ( $n = 23$ ). As distribuições de todos os grupos apresentam uma cauda sutilmente mais longa à direita em relação à curva geral, indicando a presença de valores de correlação ligeiramente mais elevados. Cada painel inclui um *inset* que identifica a referência associada ao grupo correspondente, conforme descrito na Tabela 6.

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho analisou os padrões de codificação de recompensa no Mesencéfalo durante a atividade neural registrada no Projeto Visual Behavior Neuropixels, através de sondas Neuropixels. Os resultados evidenciaram uma variabilidade maior na distribuição das taxas médias de disparo dos neurônios do Mesencéfalo diante da tarefa de detecção de mudanças do experimento, em comparação com as outras regiões do encéfalo registradas, tais quais Córtex, Tálamo e Hipocampo.

A análise detalhada das sub-regiões do mesencéfalo, por outro lado, revelou variações nos padrões de disparo e correlações distintas, associadas a diferentes contextos comportamentais e fatores como o sexo. Estes achados indicam a complexidade da interação entre os circuitos de recompensa e outros sistemas neurais, com destaque para os resultados obtidos em algumas áreas do mesencéfalo, como a Camada Intermediária de Substância Cinzenta do Colículo Superior (SCig), que teve distribuições distintas para os sexos masculino e feminino. Além disso, o Núcleo Pré-Tetal Anterior (APN) apresentou alguns resultados relevantes, sendo eles a dominância da distribuição das taxas médias de disparo em relação às distribuições das outras e o aumento nas taxas de disparo no bloco do experimento sem recompensa. Os resultados obtidos têm implicações significativas para o entendimento do sistema de recompensa e requer maior aprofundamento, principalmente no que diz respeito ao aumento na taxa de disparo no APN durante a atividade sem recompensa.

Portanto, este trabalho contribui para a literatura ao fornecer uma visão abrangente sobre os mecanismos neurais da recompensa no mesencéfalo, ao pesquisar a fundo os padrões de codificação de recompensa nas diferentes subáreas do Mesencéfalo e através de metodologias variadas, como medidas e testes estatísticos, PSTH e correlação de Pearson. A investigação dos sistemas de recompensa pode ser de grande valia no estudo de transtornos relacionados a disfunções dopaminérgicas, como vícios, depressão e a doença de Parkinson, abrindo caminhos para futuras intervenções terapêuticas.

## ANEXO 1: PAINÉIS DE PSTH PARA AS UNIDADES DE DIFERENTES REGIÕES DO MESENCÉFALO

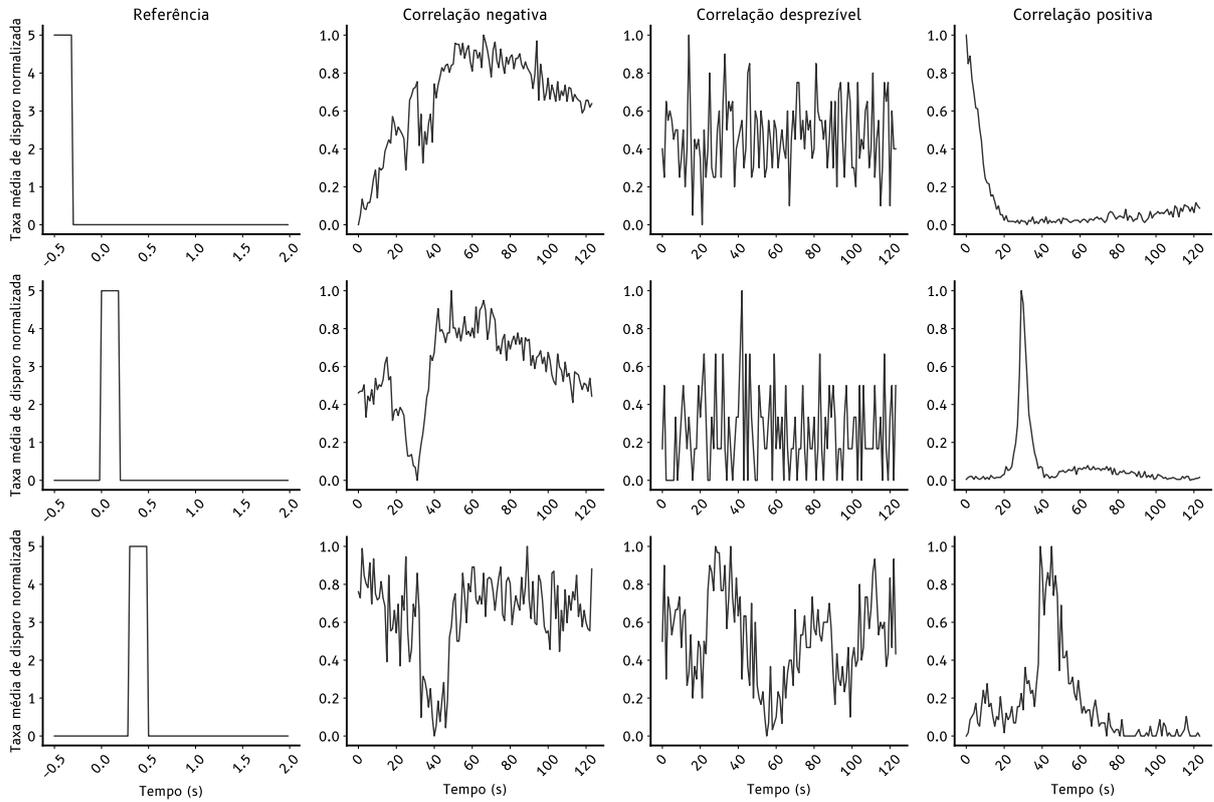


Figura 26 – Painel do PSTH dos neurônios do APN contendo as unidades com as correlações positiva e negativa mais fortes e a unidade com a correlação mais fraca (desprezível), considerando três referências diferentes (primeira coluna). De cima para baixo: a primeira referência equivale a uma taxa média de disparo maior antes do estímulo; a segunda, durante o estímulo; e a terceira, após o estímulo.

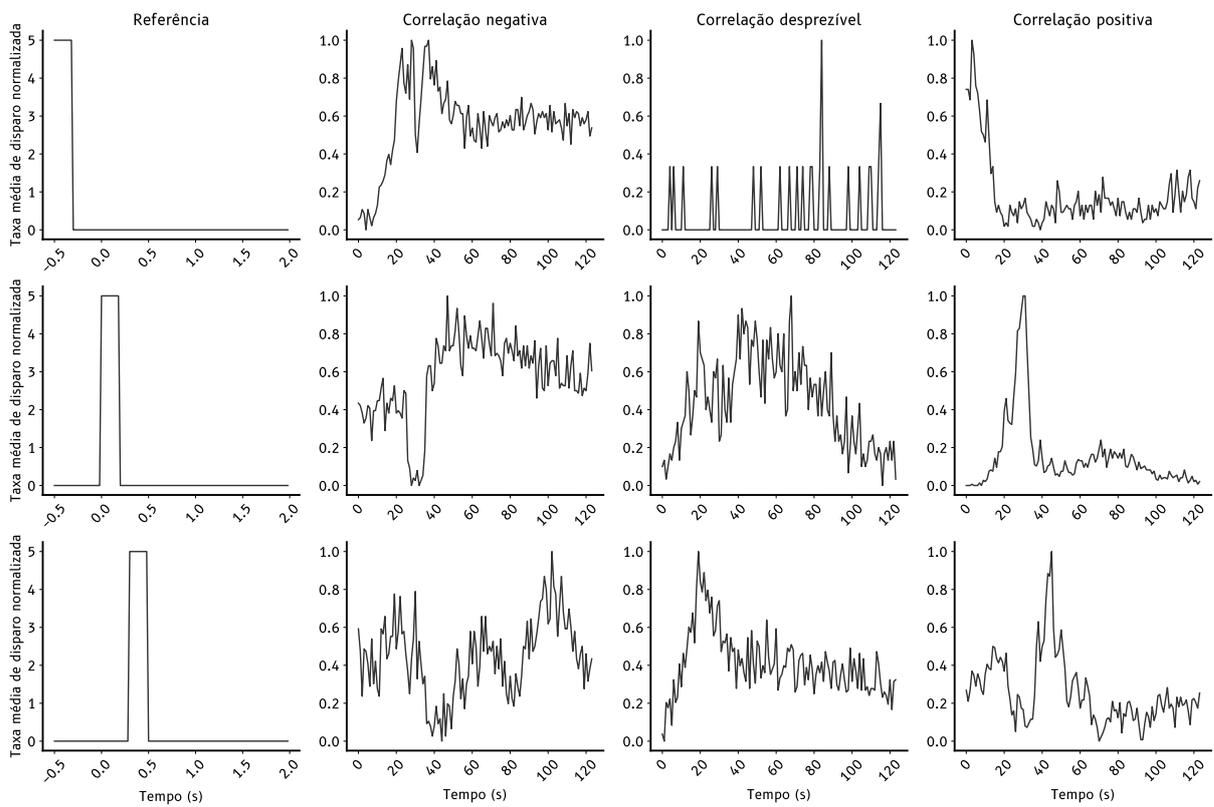


Figura 27 – Painel do PSTH dos neurônios do MB contendo as unidades com as correlações positiva e negativa mais fortes e a unidade com a correlação mais fraca (desprezível), considerando três referências diferentes (primeira coluna). De cima para baixo: a primeira referência equivale a uma taxa média de disparo maior antes do estímulo; a segunda, durante o estímulo; e a terceira, após o estímulo.

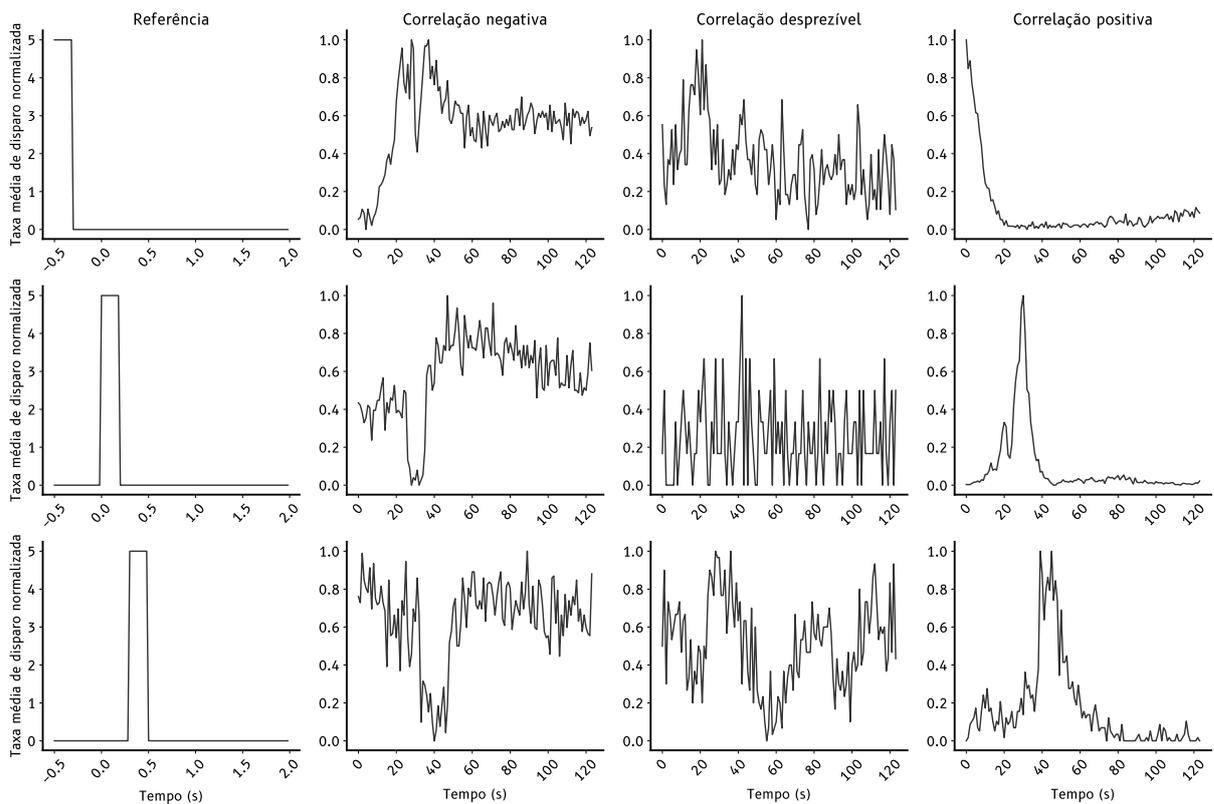


Figura 28 – Painel do PSTH dos neurônios do Mesencéfalo contendo as unidades com as correlações positiva e negativa mais fortes e a unidade com a correlação mais fraca (desprezível), considerando três referências diferentes (primeira coluna). De cima para baixo: a primeira referência equivale a uma taxa média de disparo maior antes do estímulo; a segunda, durante o estímulo; e a terceira, após o estímulo.

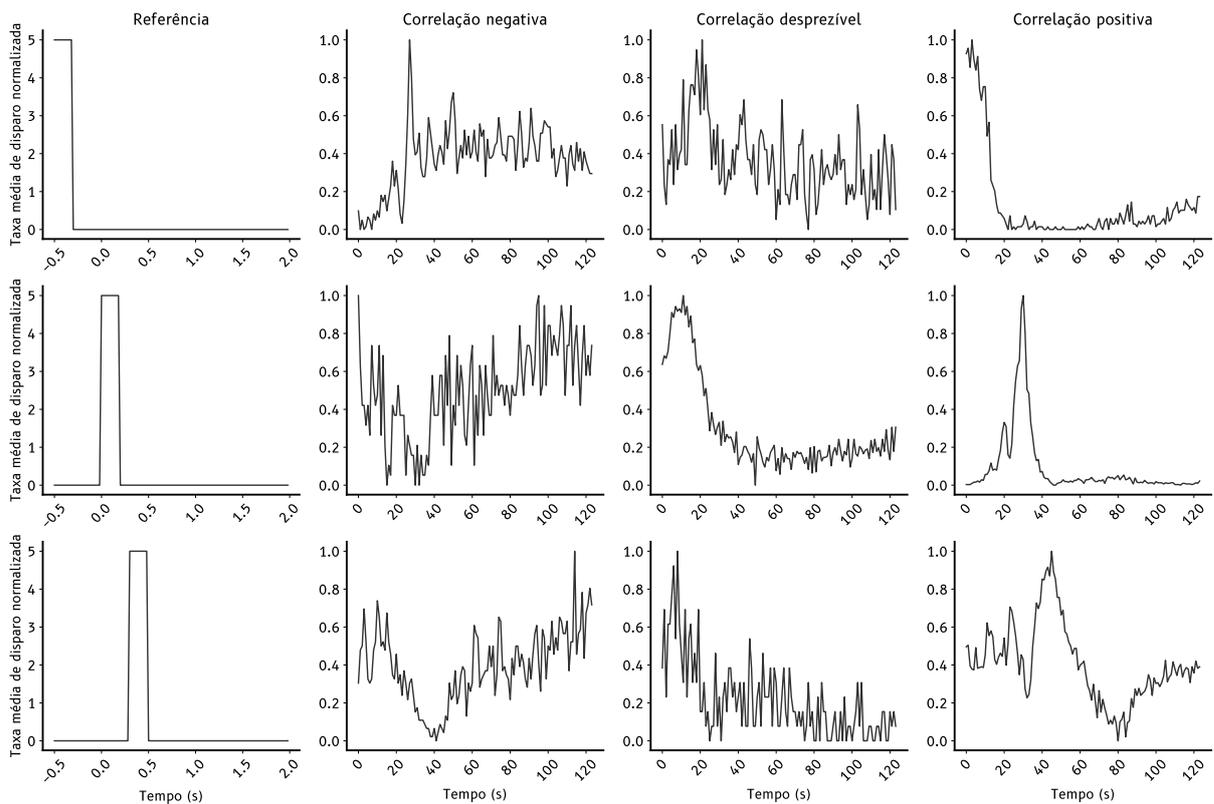


Figura 29 – Painel do PSTH dos neurônios do MRN contendo as unidades com as correlações positiva e negativa mais fortes e a unidade com a correlação mais fraca (desprezível), considerando três referências diferentes (primeira coluna). De cima para baixo: a primeira referência equivale a uma taxa média de disparo maior antes do estímulo; a segunda, durante o estímulo; e a terceira, após o estímulo.

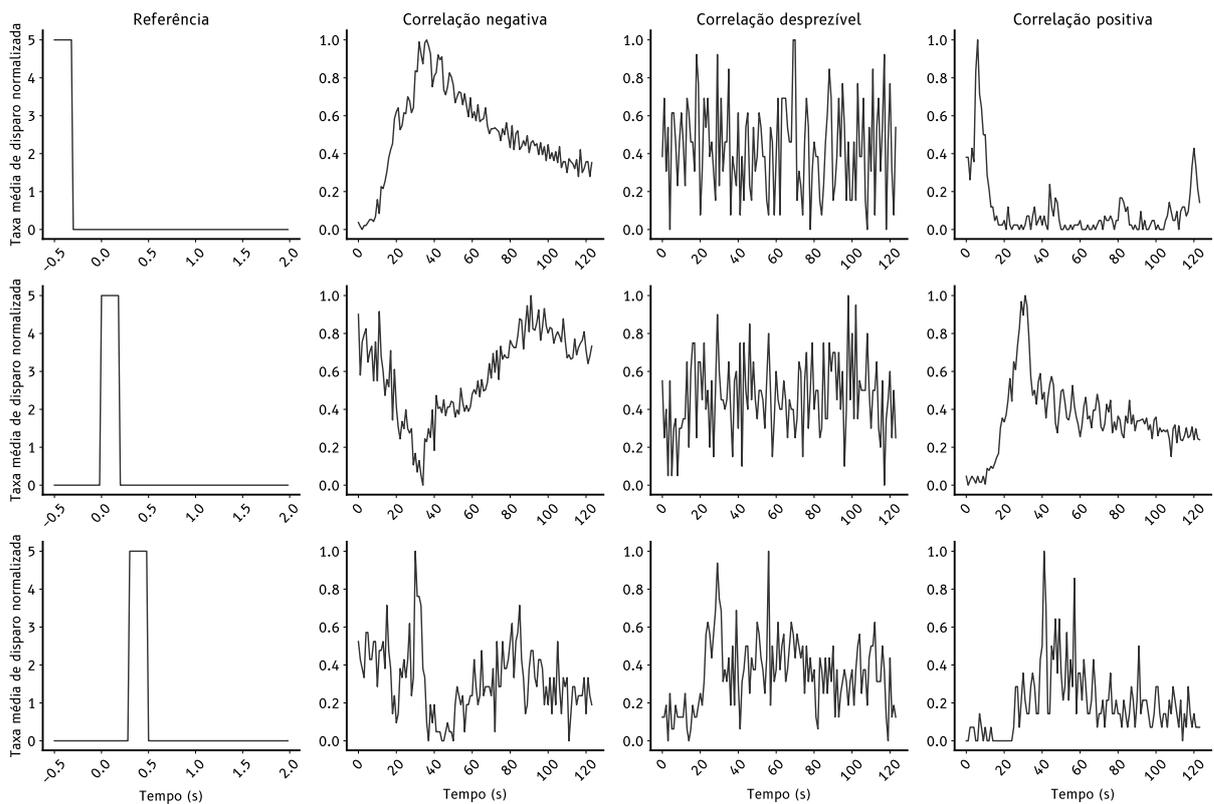


Figura 30 – Painel do PSTH dos neurônios do SCig contendo as unidades com as correlações positiva e negativa mais fortes e a unidade com a correlação mais fraca (desprezível), considerando três referências diferentes (primeira coluna). De cima para baixo: a primeira referência equivale a uma taxa média de disparo maior antes do estímulo; a segunda, durante o estímulo; e a terceira, após o estímulo.

## REFERÊNCIAS

- BUZSÁKI, G. Large-scale recording of neuronal ensembles. Nat. Neurosci., Springer Science and Business Media LLC, v. 7, n. 5, p. 446–451, maio 2004. ISSN 1097-6256,1546-1726.
- BUZSÁKI, G.; ANASTASSIOU, C. A.; KOCH, C. The origin of extracellular fields and currents–EEG, ECoG, LFP and spikes. Nat. Rev. Neurosci., Springer Science and Business Media LLC, v. 13, n. 6, p. 407–420, maio 2012. ISSN 1471-003X,1471-0048.
- BUZSÁKI, G.; MIZUSEKI, K. The log-dynamic brain: how skewed distributions affect network operations. Nature Reviews Neuroscience, v. 15, n. 4, p. 264–278, abr. 2014. ISSN 1471-003X, 1471-0048.
- GOLDSTEIN, R. Z.; VOLKOW, N. D. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. Nature Reviews Neuroscience, Nature Publishing Group, v. 12, n. 11, p. 652–669, 2011.
- HENGEN, K. B.; LAMBO, M. E.; HOOSER, S. D. V.; KATZ, D. B.; TURRIGIANO, G. G. Firing rate homeostasis in visual cortex of freely behaving rodents. Neuron, v. 80, n. 2, p. 335–342, out. 2013. ISSN 0896-6273, 1097-4199.
- HONG, G.; LIEBER, C. M. Novel electrode technologies for neural recordings. Nat. Rev. Neurosci., nature.com, 2019. ISSN 1471-003X.
- 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, ; BARBIC, M.; BLANCHE, T. J.; BONIN, V.; COUTO, J.; DUTTA, B.; GRATIY, S. L.; GUTNISKY, D. A.; HäUSSER, M.; KARSH, B.; LEDOCHOWITSCH, P.; HARRIS, T. D. Fully integrated silicon probes for high-density recording of neural activity. Nature, v. 551, n. 7679, p. 232–236, 2017.
- KANDEL, E.; MARKRAM, H.; MATTHEWS, P.; AL. et. Neuroscience thinks big (and collaboratively). Nature Reviews Neuroscience, Nature Publishing Group, v. 14, n. 9, p. 659–664, 2013.
- KANDEL, E. R.; KOESTER, J.; MACK, S.; SIEGELBAUM, S. Principles of Neural Science. 6. ed. New York: McGraw Hill, 2021. Sixth edition.
- LINDÉN, H.; BERG, R. W. Why firing rate distributions are important for understanding spinal central pattern generators. Frontiers in Human Neuroscience, v. 15, p. 719388, set. 2021. ISSN 1662-5161.
- MACHADO, A. Neuroanatomia Funcional. 4th. ed. São Paulo: Atheneu, 2020.
- MIZUSEKI, K.; BUZSÁKI, G. Preconfigured, skewed distribution of firing rates in the hippocampus and entorhinal cortex. Cell Reports, v. 4, n. 5, p. 1010–1021, set. 2013. ISSN 2211-1247.
- NICOLELIS, M. A.; GHAZANFAR, A. A.; FAGGIN, B. M.; VOTAW, S.; OLIVEIRA, L. M. Reconstructing the engram: simultaneous, multisite, many single neuron recordings. Neuron, Elsevier, v. 18, n. 4, p. 529–537, abr. 1997. ISSN 0896-6273.

PILGRIM, M. J.; OU, Z. A.; SHARP, M. Exploring reward-related attention selectivity deficits in parkinson's disease. Scientific Reports, Nature Publishing Group, v. 11, n. 1, p. 18751, 2021.

PROGRAM, A. I. M. Allen Brain Observatory – Neuropixels Visual Behavior. 2022. Dataset. Disponível em: <<https://portal.brain-map.org/explore/classes/npr-neurons>>.

ROXIN, A.; BRUNEL, N.; HANSEL, D.; MONGILLO, G.; VREESWIJK, C. van. On the distribution of firing rates in networks of cortical neurons. Journal of Neuroscience, v. 31, n. 45, p. 16217–16226, nov. 2011. ISSN 0270-6474, 1529-2401.

RUSSO, S. J.; NESTLER, E. J. The brain reward circuitry in mood disorders. Nature Reviews Neuroscience, Nature Publishing Group, v. 14, n. 9, p. 609–625, September 2013. Erratum in: Nat Rev Neurosci. 2013 Oct;14(10):736.

SCHULTZ, W. Multiple reward signals in the brain. Nature Reviews Neuroscience, Nature Publishing Group, v. 1, n. 3, p. 199–207, 2000.

SCHULTZ, W.; DAYAN, P.; MONTAGUE, P. R. A neural substrate of prediction and reward. Science, American Association for the Advancement of Science, v. 275, n. 5306, p. 1593–1599, 1997.

SCIENCE, A. I. for B. Visual Behavior Neuropixels Technical White Paper. [S.l.], 2023. Accessed: 2024-07-23. Disponível em: <[https://brainmapportal-live-4cc80a57cd6e400d854-f7fdcae.divio-media.net/filer\\_public/f7/06/f706855a-a3a1-4a3a-a6b0-3502ad64680f/visualbehaviorneuropixels\\_technicalwhitepaper.pdf](https://brainmapportal-live-4cc80a57cd6e400d854-f7fdcae.divio-media.net/filer_public/f7/06/f706855a-a3a1-4a3a-a6b0-3502ad64680f/visualbehaviorneuropixels_technicalwhitepaper.pdf)>.

SIEGLE, J. H.; JIA, X.; DURAND, S.; GALE, S.; BENNETT, C.; GRADDIS, N.; HELLER, G.; RAMIREZ, T. K.; CHOI, H.; LUVIANO, J. A.; GROBLEWSKI, P. A.; AHMED, R.; ARKHIPOV, A.; BERNARD, A.; BILLEH, Y. N.; BROWN, D.; BUICE, M. A.; CAIN, N.; CALDEJON, S.; CASAL, L.; CHO, A.; CHVILICEK, M.; COX, T. C.; DAI, K.; DENMAN, D. J.; VRIES, S. E. de; DIETZMAN, R.; ESPOSITO, L.; FARRELL, C.; FENG, D.; GALBRAITH, J.; GARRETT, M.; GELFAND, E. C.; HANCOCK, N.; HARRIS, J. A.; HOWARD, R.; HU, B.; HYTNEN, R.; IYER, R.; JESSETT, E.; JOHNSON, K.; KATO, I.; KIGGINS, J.; LAMBERT, S.; LECOQ, J.; LEDOCHOWITSCH, P.; LEE, J. H.; LEON, A.; LI, Y.; LIANG, E.; LONG, F.; MACE, K.; MELCHIOR, J.; MILLMAN, D.; MOLLENKOPF, T.; NAYAN, C.; NG, L.; NGO, K.; NGUYEN, T.; NICOVICH, P. R.; NORTH, K.; OCKER, G. K.; OLLERENSHAW, D.; OLIVER, M.; PACHITARIU, M.; PERKINS, J.; REDING, M.; REID, D.; ROBERTSON, M.; RONELLENFITCH, K.; SEID, S.; SLAUGHTERBECK, C.; STOECKLIN, M.; SULLIVAN, D.; SUTTON, B.; SWAPP, J.; THOMPSON, C.; TURNER, K.; WAKEMAN, W.; WHITESELL, J. D.; WILLIAMS, D.; WILLIFORD, A.; YOUNG, R.; ZENG, H.; NAYLOR, S.; PHILLIPS, J. W.; REID, R. C.; MIHALAS, S.; OLSEN, S. R.; KOCH, C. Survey of spiking in the mouse visual system reveals functional hierarchy. Nature, v. 592, n. 7852, p. 86–92, abr. 2021. Epub 2021 Jan 20.

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. ISSN 1097-6256, 1546-1726.