

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

**SINCRONIZAÇÃO DE FASE ENTRE ÁREAS CORTICAIS  
DURANTE UMA TAREFA COMPORTAMENTAL DE CONTAGEM  
DE TEMPO**

RECIFE

2019



LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

**SINCRONIZAÇÃO DE FASE ENTRE ÁREAS CORTICAIS  
DURANTE UMA TAREFA COMPORTAMENTAL DE CONTAGEM  
DE TEMPO**

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

**Orientador:** Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

**Co-orientador** Prof. Dr. Pedro Valadão Carelli

RECIFE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A282s Aguiar, Leandro Alvaro de Alcantara.  
Sincronização de fase entre áreas corticais durante uma tarefa comportamental de contagem de tempo / Leandro Alvaro de Alcantara Aguiar. – Recife, 2019.  
79 f.: il.

Orientador(a): Romildo de Albuquerque Nogueira.  
Coorientador(a): Pedro Valadão Carelli.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2019.  
Inclui referências e anexo(s).

1. Condicionamento operante 2. Neurociências 3. Arduino  
I. Nogueira, Romildo de Albuquerque, orient. II. Carelli, Pedro Valadão, coorient. III. Título

CDD 574

LEANDRO ÁLVARO DE ALCANTARA AGUIAR

**SINCRONIZAÇÃO DE FASE ENTRE ÁREAS  
CORTICAIS DURANTE UMA TAREFA  
COMPORTAMENTAL DE CONTAGEM DE TEMPO**

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

Aprovada em 25 de Fevereiro de 2019. **Banca Examinadora:**

---

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

---

Dr<sup>a</sup>. Fernanda Selingardi Matias  
Instituto de Física– UFAL

---

Dr. Nivaldo Antonio Portela de Vasconcelos  
Departamento de Engenharia Biomédica –  
UFPE

---

Dr. Edbhergue Ventura Lola Costa  
PPGBA – UFRPE

---

Dr. Fabrício Bezerra de Sá  
PPGBA – UFRPE

RECIFE

2019

*Para Meus Pais,  
Milson e Mira*

## AGRADECIMENTOS

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

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

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

Ao Professor Dr. Pedro Carelli pela orientação que me confiu a realização deste projeto desafiador.

Aos Professores Dr. Mauro Copelli e Dr. Nivaldo Vasconcelos pelas discussões e por viabilizarem a execução deste projeto.

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

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

Aos amigos do LABTEC, Danielle Dutra, Daniella Tavares, Edhergue Costa, Renato Moraes, Walter Santos, Gesilda Florenço, José Radamés, Eva Luana, Ardiles Juan, Victor Felipe, Marcia Silva, Hanna Gracie, Camila Tenório e a Prof<sup>a</sup> Dr. Marliete Soares, pelo convívio e pelos bons momentos durante todos esses anos.

À Jeine Emanuele pela amizade e imensa ajuda principalmente na reta final deste trabalho.

Aos Amigos do LFTC, Thais Senior, Thais Jr, Jheniffer, Tawan, Ítalo, Nastaram, Eugênio, Antonio, Igor, Edilson, pelo convívio, ensinamentos e paciência.

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

Ao Departamento de Física da UFPE, por permitir a execução deste projeto, em especial aos técnicos Daniel e Marcos da Oficina eletrônica.

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

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

## RESUMO

Ao longo de décadas a neurociência tem buscado correlatos neurais da percepção ou de ações comportamentais. Com a evolução dos métodos de registro da atividade neural, tornou-se mais prático a realização de experimentos que permitissem o registro simultâneo de múltiplos eletrodos em distintas regiões cerebrais, ao mesmo tempo em que o animal executa uma determinada tarefa comportamental. Através destes experimentos foi possível identificar que as oscilações corticais desempenham um importante papel na cognição, principalmente as oscilações que estão sincronizadas para diferentes regiões. Recentemente foi descoberto um tipo de sincronização contra-intuitiva chamada de sincronização antecipada (SA). Na AS duas regiões estão sincronizadas, de forma unidirecional, ou seja, o mestre envia informação para o escravo. Contudo quando verificada a diferença de fase entre as regiões o escravo está antecipado, temporalmente, em relação ao mestre. Neste trabalho identificamos regimes de SA, somente para trials em que a tarefa foi realizada satisfatoriamente e conseqüentemente foram recompensadas durante a realização de uma tarefa de contagem de tempo. Mostramos a ocorrência de regimes de SA durante a realização de uma tarefa comportamental de contagem de tempo. Além do mais desenvolvemos um sistema comportamental controlado por Arduino, capaz de acompanhar a execução de diferentes tarefas comportamentais sincronizada com o registro da atividade neural.

Palavras-chave: Condicionamento operante, tempo de reação, sincronização.

**Palavras-chave:** Condicionamento operante, tempo de reação, sincronização.

## ABSTRACT

Over the decades, neuroscience has sought to correlate neural activity with behavioral states. With the evolution of the methods of recording the neural activity, it became more practical to perform experiments that allowed the simultaneous recording of multiple electrodes in different brain regions, at the same time that the animal performs a behavioral task. Through these experiments, it was possible to identify that cortical oscillations has an important role in cognition, especially the oscillations that are synchronized to different regions. Recently a type of counter-intuitive synchronization called anticipated synchronization (AS) was discovered. In AS the two regions are synchronized, in a unidirectional way, that is, the master sends information to the slave. However, when the phase difference between the regions is verified, the slave is temporarily anticipated in relation to the master. In this work, we have identified AS regimes, only for trials rewarded during the accomplishment of time counting task. It has been shown AS regimens occur in a behavioral test. In addition, we developed a behavioral system controlled by Arduino, able to monitor the execution of different behavioral tasks synchronized with the record of neural activity.

**Keywords:** Operant conditioning, reaction time, synchronization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – A - Caixa-problema usada pelos experimentos de Thorndike. B - Gráfico mostrando o tempo de escape por tentativa em sessão de treino de gatos na caixa-problema de Thorndike. Adaptado de Thorndike (1898). . . . 15
- Figura 2 – A - Resposta condicionada desejada onde os ratos soltavam a alavanca após serem apresentados ao estímulo e recebiam a recompensa. B - Resposta prematura onde os ratos soltavam a alavanca antes do estímulo. Modificado de Narayanan e colaboradores (2005). . . . . 18
- Figura 3 – Um exemplo do primeiro registro em EEG feito em humanos por Berger (1929). . . . . 22
- Figura 4 – Matriz multieletrodos. Matriz produzida no LNSC de 32 microeletrodos e configuração 4 x 8, normalmente utilizadas para registro em uma única região. Adaptado de Neto (2015) . . . . . 28
- Figura 5 – Construção da matriz de microeletrodos. a - Fios de tungstênio com 50 mm de comprimento, junto com a base. b - Fios unidos através da tensão superficial da água. c - Fios posicionados no centro da base com uma gotícula de resina fotopolimerizável. d - fotopolimerização. e - Soldagem do mini conector à PCI. f - soldagem dos fios desencapados na PCI. g - fios soldados na PCI (dois lados). h - Matriz finalizada. . . 29
- Figura 6 – Cérebro de rato com esquemas de cores mostrando as áreas onde foram inseridos eletrodos. Os pontos de cores verde, roxo, vermelho, preto e azul correspondem ao córtex pré-frontal (CPF), córtex motor primário (M1), córtex somatossensorial primário (S1), córtex posterior parietal (PPC) e córtex visual primário (V1), respectivamente. . . . . 30
- Figura 7 – Sistema de registro eletrofisiológico junto com o sistema comportamental 31
- Figura 8 – Disco liberador de pelete. *Vista lateral* do dispensador de peletes alimentares constituído por: (1) disco de liberação de peletes; (2) adaptador do motor; (3) motor de passo; (4) pelete alimentar; (5) emissor de luz infravermelha; (6) receptor de luz infravermelha; (7) base de sustentação; (8) hastes rosqueada de sustentação; (9) porca; (10) bases de haste; (11) conectores para alimentação do circuito; (12). *Vista superior* do dispensador de peletes alimentares constituído por: (1) disco de liberação de peletes; cânula de liberação; (13) perfuração central; (14) furo maior; (15) furo menor; (16) base de sustentação; (17) conectores para alimentação do circuito eletrônico; (18) conectores para o microcontrolador; (19) conectores para barras da caixa de comportamento; (20) furo para hastes rosqueadas de sustentação. . . . . 33

Figura 9 – Esquema elétrico do sistema de comunicação óptica. Um diodo converte o sinal elétrico do arduino em uma luz que é conduzida por uma fibra óptica. No final da fibra óptica tem um receptor que converte a luz em sinal elétrico. . . . .	34
Figura 10 – Uma amostra de um sinal de LFP da região S1 seguido pela sua densidade espectral de potência. . . . .	36
Figura 11 – (a) Densidade espectral de potência do CPF (verde) e PPC (vermelho), mostrando um pico de densidade em 4 Hz para ambas regiões. (b) coerência entre o CPF e PPC, mostrando um pico de coerência em 4 Hz entre PPC e CPF. . . . .	37
Figura 12 – Um exemplo de quando a série temporal $X$ Granger-causa a série temporal $Y$ , os padrões temporais de $X$ são repetidos em $Y$ , após um intervalo de tempo (setas). Assim, os valores do passado de $X$ podem ser usados para prever os valores futuros de $Y$ . . . . .	38
Figura 13 – Coerências do MVAR ( $a,c,e$ ) e calculada a partir do LFP ( $b,d,f$ ) apresentando comportamento espectral semelhantes entre os grupos (Pre, Almost e Rw). $a$ . Pre trial Coerência (LFP); $b$ . Pre trial Coerência (MVAR); $c$ . Almost trial Coerência (LFP); $d$ . Almos trial Coerência (MVAR); $e$ . Rw trial Coerência (LFP); $g$ . Rw trial Coerência (MVAR). . . . .	39
Figura 14 – Interface do Wave_Clus . . . . .	40
Figura 15 – Dados brutos <i>raw data</i> correspondem as oscilações de voltagem ao longo de tempo, foram coletados usando uma matriz de multieletrodos que são capazes de registrar além das oscilações de população a atividade unitária de neurônios. Após a filtragem <i>raw data</i> os <i>spikes</i> são evidenciados e o processo de detecção torna-se mais fácil. Modificado de Quiroga, Nadasdy e Ben-Shaul (2004). . . . .	41
Figura 16 – Amostras de <i>spikes</i> . Esquema de cores é o mesmo descrito na Figura (6). . . . .	41

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>15</b>
2.1	CONDICIONAMENTO OPERANTE	15
2.2	GO/NOGO	17
2.3	<i>SIMPLE REACTION TIME (SRT)</i>	18
2.4	<i>DIFFERENTIAL REFORCEMENT OF RESPONSE DURATION (DRRD)</i>	18
2.5	DINÂMICA NEURAL DOS PROCESSOS COMPORTAMENTAIS	19
2.6	SINCRONIZAÇÃO EM SISTEMAS NEURAIS	21
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>26</b>
3.1	GERAL	26
3.2	ESPECÍFICOS	26
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
4.1	ANIMAIS	27
4.2	ELETRODOS	27
4.3	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	30
4.4	REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO	31
4.5	APARATO COMPORTAMENTAL	31
4.5.1	Hardware	32
4.5.1.1	Disco dispensador de pelete alimentar	32
4.5.1.2	Placa de circuito impresso e Arduino (Eletrônica)	32
4.5.1.3	Comunicação óptica	34
4.5.2	Software	34
4.5.3	Protocolo comportamental	35
4.5.3.1	FR1	35
4.5.3.2	SRT	35
4.5.3.3	DRRD	35
4.5.4	Análise de dados	35
4.5.4.1	Transformada Fourier	36
4.5.4.2	Coerência espectral	37
4.5.4.3	Causalidade de Granger	37
4.5.4.4	Deteccção do potencial de ação	40
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>42</b>

5	DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR	50
6	OPEN HARDWARE LOW COST SYSTEM FOR BEHAVIORAL EXPERIMENTS SIMULTANEOUSLY WITH ELECTROPHYSIOLOGICAL RECORDINGS . . . . .	63
7	PHASE SYNCHRONIZATION BETWEEN CORTICAL AREAS DURING A TIME TASK . . . . .	70
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS . . . . .	76
9	ANEXOS . . . . .	77

# 1 INTRODUÇÃO

A compreensão das bases neurais envolvidas no comportamento é um dos pilares da neurociência (GOMEZ-MARIN et al., 2014). Para investigar a atividade neural durante um determinado comportamento é fundamental o registro da atividade unitária de neurônios ou da atividade de campo durante a realização de uma tarefa específica (NICOLELIS, 2008). Além disso, é necessário um mecanismo de sincronização entre os equipamentos de registro eletrofisiológico e comportamental, (*handshaking*), para que se obtenha uma referência de tempo precisa no registro dos momentos de ocorrência das tarefas comportamentais.

Durante a realização de uma atividade comportamental emergem uma variedade de oscilações cerebrais. Ao longo dos anos foram descobertos que essas oscilações estão associadas a uma enorme gama de funções cognitivas (BUZSAKI, 2006). Oscilações em populações neurais normalmente são caracterizadas pela frequência, sendo elas: delta (0.5–3.5 Hz), teta (4–7 Hz), alfa (8–12 Hz), beta (13–30 Hz) and gama (>30 Hz) (ENGEL; FRIES, 2010).

Esses padrões de oscilações podem ocorrer temporariamente na mesma ou em diferentes regiões, ao mesmo tempo. Assim, quando regiões distintas estão com o mesmo padrão de oscilação, podemos dizer que estão sincronizadas. A sincronização entre regiões cerebrais tem sido reportada como uma forma de facilitar a troca de informações entre elas (FRIES, 2005; FRIES, 2009).

Recentemente foi observada uma forma de sincronização contra intuitiva chamada de sincronização antecipada (SA) (VOSS, 2000). Sua ocorrência foi reportada em sistemas dinâmicos autônomos acoplados de forma unidirecional em uma configuração mestre-escravo (MS), onde o sistema mestre influencia o escravo, porém a atividade do sistema escravo precede a do sistema mestre, de certa forma prevendo sua trajetória.

Em um estudo envolvendo micro circuitos neurais, foi mostrado SA em um modelo onde todos os componentes matemáticos tinham um correlato fisiológico, em particular o auto-feedback inibitório sendo substituído por um loop inibitório mediado por um interneurônio inibitório com sinapses químicas (MATIAS et al., 2011). Um outro grupo ao modelar os mecanismos cerebrais de produção do canto do passarinho também encontrou SA (DIMA; COPELLI; MINDLIN, 2018). Em trabalhos experimentais regimes de SA foram encontrados durante a realização de tarefas comportamentais por macacos (BROVELLI et al., 2004; MATIAS et al., 2014; SALAZAR et al., 2012).

A sincronização tem tido um importante papel na codificação e processamento neural. Assim, diferentes mecanismos de sincronização podem ser necessários para fornecer flexibilidade de comunicação em uma única arquitetura anatômica de rede. Assim, mudan-

ças de curto prazo no estado de sincronização podem ser necessárias para uma resposta flexível para o processamento cognitivo (BRESSLER; KELSO, 2001). Neste sentido, o SA pode representar um estado dinâmico valioso ainda pouco estudado.

Neste trabalho, desenvolvemos, construímos e testamos um sistema comportamental de baixo custo capaz de executar diferentes testes comportamentais. Através deste sistema, conseguimos mostrar que a SA também ocorre durante a realização de uma tarefa comportamental de contagem de tempo.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CONDICIONAMENTO OPERANTE

O Condicionamento Operante (CO) foi um termo criado por Skinner (1935) baseado na lei do efeito de Thorndike (1898). A lei do efeito de Thorndike afirma que a aprendizagem ocorre por ensaio e erro através da eliminação progressiva das tentativas erradas, enquanto que as tentativas satisfatórias se fortalecem. Assim, respostas que produzem um efeito agradável possuem uma maior probabilidade de acontecerem do que respostas que produzem um efeito desagradável. Logo, qualquer comportamento seguido por consequências desagradáveis provavelmente será interrompido (GRAY, 2018).

No experimento clássico de Thorndike foi possível observar o processo de aprendizagem em animais. Ele desenvolveu um experimento no qual usou uma caixa-problema, mostrada na Figura 1-A, para testar empiricamente o processo de aprendizagem. Neste experimento o sujeito, normalmente um gato, com restrição alimentar, era colocado dentro da caixa e do lado externo à caixa era deixado um alimento, um peixe. Assim, o gato tinha que buscar formas de sair de dentro da caixa, para obter o alimento. Isso era possível quando o gato acionava uma alavanca no interior da caixa. Nas primeiras tentativas, os animais experimentaram diferentes formas de escapar até que, eventualmente, eles esbarravam na alavanca que abre a gaiola. Quando o animal escapava era colocado novamente dentro da caixa. Durante o experimento o tempo que o animal levava para sair da caixa-problema era registrado e depois acompanhado em gráficos do tempo de escape por tentativas realizadas (Figura 1-B). Em tentativas de sucesso, os gatos aprenderam que ao pressionar a alavanca teria consequências favoráveis e adotaram esse comportamento.

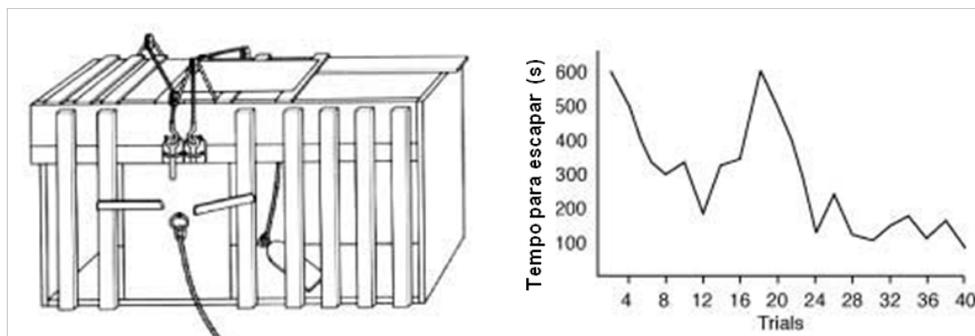


Figura 1 – A - Caixa-problema usada pelos experimentos de Thorndike. B - Gráfico mostrando o tempo de escape por tentativa em sessão de treino de gatos na caixa-problema de Thorndike. Adaptado de Thorndike (1898).

O experimento era repetido ao longo de dias até que, progressivamente, os ensaios ineficazes iam diminuindo e os gatos iam tornando-se cada vez mais rápidos em pressionar

a alavanca e, portanto, o tempo que o animal levava para sair da caixa diminuía muito em relação à primeira tentativa, como é possível observar na Figura 1-B (JOHNSTON et al., 2008). A partir dos estudos de Thorndike é que foi introduzido o conceito de reforço. O referido autor foi o primeiro a aplicar princípios psicológicos à área da aprendizagem.

Assim Skinner, como Thorndike, colocou animais em caixas e os observou para ver o que eles eram capazes de aprender. A partir das observações de Skinner é que foi desenvolvido o conceito de condicionamento operante (DOMJAN, 1993). O condicionamento operante é um método de aprendizado que ocorre através de recompensas e punições por comportamento. Através do CO, um indivíduo faz uma associação entre um determinado comportamento e uma consequência. Dessa forma, o CO é uma técnica que pode ser utilizada para aumentar a frequência de um determinado comportamento desejado através da utilização de recompensas (STURDY; NICOLADIS, 2017).

Skinner observou que através de reforços e punições era possível alterar a frequência de ocorrência de um determinado comportamento, ao longo das sessões. Ele utilizou o termo reforçador para se referir a qualquer evento que aumentasse a probabilidade de um comportamento e o termo punidor para se referir a qualquer evento que enfraquecesse ou diminuísse essa probabilidade. O reforço positivo fortalece a resposta apresentando algo agradável após a resposta. Já o reforço negativo ocorre apresentando algo desagradável, ou seja, um estímulo aversivo, quando se tem uma resposta indesejada. Por exemplo, elogiar a criança por completar seu dever de casa representa um reforço positivo. Por sua vez colocar a criança de castigo toda vez que ele tirar nota baixa é um exemplo de reforço negativo. Em ambos os casos, o reforço torna mais provável que o comportamento desejado ocorra novamente (STURDY; NICOLADIS, 2017).

Os experimentos de CO, realizados por Skinner, foram conduzidos acomodando animais dentro de ambientes em que os estímulos poderiam ser cuidadosamente controlados, denominadas de caixa de Skinner, que eram semelhantes à caixa-problema do Thorndike. As caixas de Skinner permitiram que o treinamento fosse feito de forma automatizada e intermitente, ou seja, o animal poderia fazer uma ou mais respostas simples e repetitivas, e a taxa de tais respostas se tornava a principal medida comportamental (SCHACTER; GILBERT; WEGNER, 2011).

Um esquema de reforço é um procedimento que permite a um indivíduo, por meio de regras bem definidas, a aprendizagem de uma determinada tarefa. Um tipo de esquema de reforço bastante utilizado na literatura é aquele baseado na contagem de tempo, com intervalo fixo e variável, em que o estímulo reforçador ocorre após um período de tempo fixo ou variável (STURDY; NICOLADIS, 2017).

Dessa forma, o interior da caixa de Skinner continha uma pequena alavanca que o animal poderia pressionar e conseqüentemente gerar a liberação de um alimento. Diferentemente da caixa-problema de Thorndike, em que o tempo de fuga era mensurado,

a caixa de Skinner avaliava a frequência da ação comportamental de pressionar a alavanca junto com o intervalo de tempo que ela foi mantida pressionada, podendo trabalhar com diversas programações para reforço (ROSSGER, 2015).

Ao longo dos últimos anos, a caixa de Skinner foi modificada para ser utilizada para diferentes espécies e paradigmas comportamentais mais elaborados do que aqueles propostos por Skinner (ROSSGER, 2015). Logo, alterando o programa para aplicação do reforço é possível expandir o uso do condicionamento operante para a utilização de testes comportamentais como: Go/NoGo, o tempo de reação simples (SRT, do inglês *Simple Reaction Time*) e reforço diferencial por duração de resposta (DRRD, do inglês *Differential Reinforcement of Response Duration*).

## 2.2 GO/NOGO

Os paradigmas experimentais que mensuram os tempos de resposta (RT, do inglês *Reaction Time*) frequentemente avaliam aspectos relacionados à percepção de tempo e tomada de decisão. Uma ferramenta comumente empregada neste esforço é o teste Go/NoGo (GOMEZ; RATCLIFF; PEREA, 2007; ROSSGER, 2015).

O Go/NoGo é uma tarefa cognitiva que visa determinar a capacidade de um indivíduo inibir uma resposta considerada inapropriada. Trata-se de um paradigma bastante utilizado no estudo do comportamento animal e na psicologia (BOKURA; YAMAGUCHI; KOBAYASHI, 2001; DOLZANI; NAKAMURA; COOPER, 2014; GOMEZ; RATCLIFF; PEREA, 2007).

Neste tipo de tarefa os indivíduos são obrigados a responder uma tarefa com uma ação (pressionar uma alavanca) ou inibição de uma ação (não pressionar uma alavanca), dependendo se o estímulo for do tipo Go ou NoGo (RANDALL; SMITH, 2011; VERBRUGGEN; LOGAN, 2008). Assim o sujeito inicia uma resposta condicionada durante um estímulo e diante do estímulo oposto tem que reter a resposta.

Por ser capaz de avaliar os RT's prematuras, ou seja, os que acontecem antes do aparecimento do estímulo, a tarefa Go/NoGo tem sido utilizada para estudos de impulsividade (RUCHSOW et al., 2008), inclusive junto com o registro do eletroencefalograma (EEG) (RUCHSOW et al., 2008) e para avaliação de transtorno de personalidade (RENTROP et al., 2008). Além disso, tem sido uma importante ferramenta para compreensão dos correlatos neurais envolvidos com o processo de tomada de decisão (DALLEY; EVERITT; ROBBINS, 2011; SCHOENBAUM; ROESCH; STALNAKER, 2006; STAHL et al., 2014), principalmente utilizando modelos animais onde é possível a manipulação farmacológica (GOUZOULIS-MAYFRANK et al., 2000; VACHON; KITSIKIS; ROBERGE, 1984).

### 2.3 SIMPLE REACTION TIME (SRT)

Outro paradigma experimental baseado em RT é a SRT. Neste tipo de tarefa, o indivíduo é apresentado a um estímulo e possui uma única opção de resposta correta para receber a recompensa (BLOKLAND, 1998). Portanto, somente é possível a existência de dois tipos de respostas: uma condicionada, que é reforçada (Figura 2-A) e outra prematura, que não é reforçada (Figura 2-B). Por exemplo, em uma resposta reforçada o indivíduo deve pressionar uma alavanca e aguardar a apresentação do estímulo. Quando o estímulo for apresentado, ele deve soltar a barra para receber a recompensa. Já uma resposta prematura ocorre quando o indivíduo solta a barra antes do estímulo ser apresentado. Assim é possível medir o tempo de reação de uma resposta (WOODS et al., 2015).

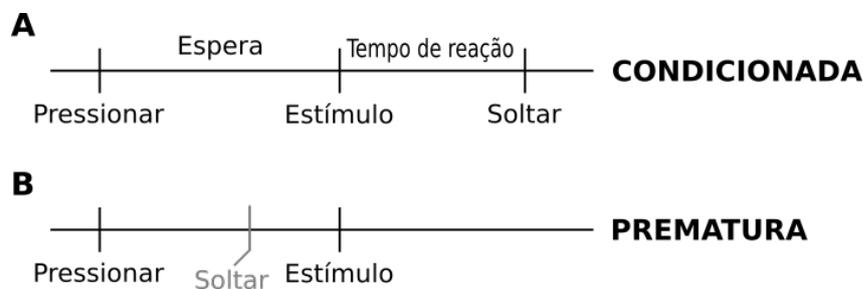


Figura 2 – A - Resposta condicionada desejada onde os ratos soltavam a alavanca após serem apresentados ao estímulo e recebiam a recompensa. B - Resposta prematura onde os ratos soltavam a alavanca antes do estímulo. Modificado de Narayanan e colaboradores (2005).

A mensuração do tempo de reação é uma importante fonte de informação de como as respostas motoras são selecionadas e como ocorre o processamento da informação neural para diferentes respostas (BLOKLAND, 1998)

No século XIX, Francis Galton foi um dos primeiros pesquisadores a utilizar o teste de SRT (JOHNSON et al., 1985). Desde então, o teste, tem sido aplicado para diferentes fins (WOODS et al., 2015), tais como avaliar o tempo de reação de um indivíduo ao longo da idade (GOTTSDANKER, 1982; HULTSCH; MACDONALD; DIXON, 2002; ROSSATO; CONTREIRA; CORAZZA, 2011), nos tempos de respostas em atividades esportivas (HIJAZI, 2013; NOCE et al., 2013; SMIDT et al., 2015) e na psicologia clínica (VOGT et al., 2012).

### 2.4 DIFFERENTIAL REFORCEMENT OF RESPONSE DURATION (DRRD)

Os problemas de tempo podem ser abordados utilizando paradigmas de intervalos fixos (FR, do inglês *fixed rate*). Em uma típica tarefa de FR1 é necessária que somente uma ação seja executada para receber a recompensa. Por exemplo, ao treinar um rato usando FR1 é necessário que ele pressione a alavanca uma única vez e aguarde um intervalo

após o aparecimento do estímulo para que seja liberado um pelete de açúcar (LEJEUNE; RICHELLE; WEARDEN, 2006).

A partir do desenvolvimento do FR foi possível que esquemas de reforço mais complexos fossem desenvolvidos. Um exemplo foi o método de reforço diferencial por duração de resposta (DRRD, do inglês *Differential Reinforcement Response Duration*). No DRRD, o indivíduo deve manter uma resposta sustentada durante um determinado intervalo de tempo para receber sua recompensa (LEJEUNE; RICHELLE; WEARDEN, 2006). Uma das vantagens da tarefa DRRD é a redução da atividade motora do indivíduo favorecendo o registro eletrofisiológico.

## 2.5 DINÂMICA NEURAL DOS PROCESSOS COMPORTAMENTAIS

Desde o pioneiro trabalho de Ramón y Cajal, os neurônios são considerados as estruturas constituintes fundamentais do cérebro. E desde então pesquisadores acreditam que podem entender o funcionamento do cérebro a partir do monitoramento de neurônios individuais. Desde então foram encontradas relações entre o registro de potenciais de ação de células unitárias com determinados comportamentos (CAJAL, 1928; BARLOW, 1972; BUZSAKI, 2002; BUZSAKI, 2005).

O potencial de ação é a unidade básica de codificação de informações neurais biológicas. No sistema nervoso, diferentes padrões de sequências de potenciais codificam informações distintas (HIRATA; AIHARA, 2009). A definição de taxa de disparo neuronal refere-se ao número de potenciais disparados dentro de certa janela de tempo (KANDEL et al., 2014). Através da decodificação das células transdutoras o converte os estímulos sensoriais em sinais elétricos, por exemplo, os bastonetes convertem os estímulos visuais em potencial de ação que serão conduzidos até o córtex visual (KANDEL et al., 2014; MCNAUGHTON; KNIERIM; WILSON, 2004).

Quando os potenciais de ação chegam ao SNC são processados por regiões específicas que se especializaram, ao longo da evolução, em processar determinadas funções. Um exemplo é o córtex pré-frontal que possui um importante papel no processo de tomada de decisão (BECHARA et al., 1998; LUO et al., 2017; MURRAY; RUDEBECK, 2018).

Por meio de diferentes métodos comportamentais é possível estudar as relações existentes entre o cérebro e comportamento (BLOKLAND, 1998). A tarefa Go/NoGo permite a investigação dos mecanismos de inibição de uma resposta. Assim, quando um estímulo NoGo é apresentado, uma série de mecanismos relativos a inibição da resposta são desencadeados no cérebro (CRIAUD; BOULINGUEZ, 2013). Esses mecanismos foram estudados tanto do ponto de vista funcional (CRIAUD; BOULINGUEZ, 2013; SIMMONDS; PEKAR; MOSTOFSKY, 2008) quanto eletrofisiológico (BAIJOT et al., 2017; BARRY; JOHNSTONE; CLARKE, 2003).

Comumente o teste Go/NoGo é usado para estudos dos correlatos neurais na execução e inibição de atividade motora. Neste tipo de tarefa existe uma série de estágios para serem processados como: processamento do estímulo, discriminação do tipo de estímulo, escolha da resposta apropriada, execução ou inibição da atividade motora (RUSSO et al., 2006).

Uma forma de compreender os processos de inibição de resposta é através de experimentos com indivíduos que apresentam transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH). Ao avaliar os potenciais de eventos relacionados (ERP, do inglês: *Event-related potential*), que é uma resposta cerebral que pode ser observada no EEG, em crianças com TDAH foi observada anormalidade sem componentes do ERP na região frontal durante a realização de respostas fracassadas (BARRY; JOHNSTONE; CLARKE, 2003).

Com o desenvolvimento das ferramentas de análise do EEG foi possível analisar fenômenos de sincronização e dessincronização de ERP para algumas frequências (DELORME; MAKEIG, 2004). Assim foram identificadas alterações em diversas frequências de ondas no EEG, principalmente na região frontal e occipito-parietal em crianças com TDAH (BAIJOT et al., 2017).

Imagens de ressonância magnética funcional (fMRI, do inglês *Functional Magnetic Resonance Imaging*), de tarefa Go/NoGo também mostram que o córtex pré-frontal (CPF) está envolvido no processamento da tarefa (SIMMONDS; PEKAR; MOSTOFISKY, 2008). Estudos de fMRI também revelaram que o processo de inibição da resposta em tarefas de Go/NoGo ativam simultaneamente, além das várias regiões frontais e pré-frontais, parte do estriado, parietais inferiores e a ínsula direita (AMES et al., 2014; ARON et al., 2003; ARON; ROBBINS; POLDRACK, 2004; SIMMONDS; PEKAR; MOSTOFISKY, 2008; WAGER et al., 2005).

O CPF está associado com o processo de tomadas de decisões que são altamente relevantes para o processo comportamental (BECHARA; LINDEN, 2005). Acredita-se que regiões como: córtex pré-frontal dorsolateral (dlCPF), córtex pré-frontal ventrolateral (vlCPF), córtex orbitofrontal (COF) e córtex pré-frontal ventromedial (vmCPF) estão envolvidos na inibição de resposta na tarefa Go/NoGo, bem como de outras tarefas de controle cognitivo (ARON; ROBBINS; POLDRACK, 2004; BOS et al., 2017; DOLCOS; IORDAN; DOLCOS, 2011; MAHMOOD et al., 2013). O córtex cingulado anterior (ACC) também possui relação na detecção de erros e monitoramento de conflitos no Go/NoGo (BROWN et al., 2012; MITCHELL, 2011).

O CPF pode contribuir para o processamento de conflitos de resposta (RIDDERINKHOF et al., 2004), bem como para seleção de resposta e inibição de resposta na tarefa Go/NoGo (SIMMONDS; PEKAR; MOSTOFISKY, 2008). Estudos em macacos e em ratos mostraram que o CPF possui um importante papel no processo de contagem de tempo (LI et al., 2006; RUSHWORTH et al., 2004). O CPF é uma região densamente

interconectada e envia projeções para sistemas neuromoduladores no tronco encefálico (NARAYANAN; LAUBACH, 2009). Através destas conexões, áreas frontais mediais podem formar um sistema cerebral que exerce controle *top-down* sobre o sistema motor para suprimir a resposta durante períodos de espera e atualizar o córtex frontal sobre as consequências das ações (BOULINGUEZ et al., 2008; HANAKAWA; DIMYAN; HALLETT, 2008; NARAYANAN; LAUBACH, 2006; STUPHORN; SCHALL, 2006).

Neurônios do córtex frontal medial mostram disparos persistentes durante o período de espera em macacos e roedores (NARAYANAN; LAUBACH, 2006; COWEN; MCNAUGHTON, 2007; NIKI; WATANABE, 1979). Por exemplo, Narayanan e Laubach (2006) descobriram que um terço dos neurônios do córtex pré-frontal dorsomedial (dmCPF) são modulados durante o período de espera de uma tarefa SRT. Além disso, as taxas de disparo desses neurônios previam respostas recompensadas e estavam altamente correlacionadas com disparos de neurônios do córtex motor. Cowen e McNaughton (2007) também observaram uma atividade antecipatória nesta região, sugerindo que os neurônios pré-frontais possuem atividades relacionadas com ações que envolvem o recebimento de recompensa.

## 2.6 SINCRONIZAÇÃO EM SISTEMAS NEURAIS

Em 1929 foram descobertas as primeiras oscilações cerebrais em humano por Hans Berger. Ele posicionou dois eletrodos no couro cabeludo de um sujeito, para fazer o registro de EEG. Quando era solicitado que o indivíduo fechasse os olhos, aparecia uma forte atividade rítmica de aproximadamente 10 Hz (BERGER, 1929). Essas oscilações (Figura 3) foram chamadas de oscilações alfa. São frutos de vários neurônios que estão disparando em conjunto e produzem uma atividade que é capaz de ser registrada no couro cabeludo. Desde a descoberta de Berger (1929) uma série de pesquisadores encontrou outros tipos de oscilações e tem encontrado uma forte relação destas com diversas funções cognitivas (TUDOR; TUDOR; TUDOR, 2005).

As oscilações podem ser registradas ao longo de todo o cérebro. O tecido cerebral é especializado em gerar e conduzir atividade elétrica. Os neurônios possuem propriedades eletrofisiológicas que permitem variações do seu potencial de membrana. Essas variações são chamadas de potencial de ação (PA), que tem um papel importante para o processo de comunicação entre neurônios e regiões cerebrais (WANG, 2010). Logo, as oscilações neurais correspondem a uma atividade neural síncrona dos potenciais de ação entre populações de neurônios que estão acopladas (LAKATOS et al., 2009).

Através de técnicas específicas é possível mensurar essas oscilações, que são variações de voltagem ao longo do tempo. O EEG e o magnetoencefalograma (MEG) são as formas menos invasivas de medir as oscilações, através de eletrodos posicionados no couro cabeludo.

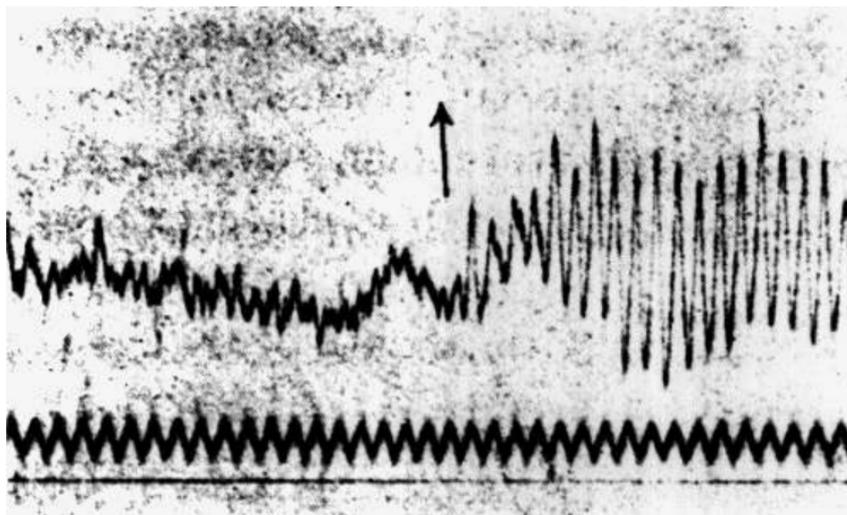


Figura 3 – Um exemplo do primeiro registro em EEG feito em humanos por Berger (1929).

Mas essas técnicas possuem desvantagens como a baixa resolução espacial. Para uma medida mais local é possível fazer um eletrocorticograma (ECoG), que é feito com eletrodos posicionados abaixo da dura-matêr, sendo uma técnica invasiva. Além do mais, é possível registrar uma população neural com eletrodos de alta impedância, inseridos no cérebro, registrando o potencial de campo local, LFP (do inglês, *Local Field Potential*). Dependendo da qualidade do eletrodo é possível identificar atividade neural unitária através da técnica de spike sorting (JIA; KOHN, 2011).

Há um grande interesse na compreensão de como as oscilações estão envolvidas nos processos cognitivos. O registro da atividade unitária tem sido uma das formas de estudar essa relação. Com esses registros foram descobertos correlatos neurais de comportamento. Nesses correlatos emergem diferentes tipos de oscilações durante processos cognitivos (WANG, 2010). Em cérebros de mamíferos essas oscilações variam entre 0,05 a 500 Hz (BUZSAKI; DRAGUHN, 2004) e estão associadas a processos sensoriais, atenção, memória, processamento motor (BASAR; GUNTEKIN, 2012; UHLHAAS; SINGER, 2006).

O ritmo teta (4-8 Hz) é uma frequência baixa, primariamente, observada no hipocampo, que provavelmente é gerada pela interação de várias regiões cerebrais (WANG, 2010). Este ritmo é muito proeminente no hipocampo e está fortemente relacionado à memória, navegação espacial e sono profundo (BUZSAKI, 2002; BUZSAKI, 2005; HUERTA; LISMAN, ; KAMONDI et al., 1998).

O ritmo alfa (8-12 Hz) também é chamado de ondas de Berger, pois foi o primeiro a observá-lo (FOSTER et al., 2017). Tradicionalmente é visto na região occipital durante o relaxamento, em vigília, com os olhos fechados, sendo um dos ritmos mais fortes do EEG. Durante muito tempo foi relatado que o ritmo alfa, de origem parietal-occipital, era atenuado com a abertura dos olhos, estímulos visuais e aumento da atenção. Tais resultados levantaram a hipótese de que estaria associado como um ritmo de inatividade

que caracteriza um estado cerebral de alerta com baixa atividade (ADRIAN; MATTHEWS, 1934; PALVA; PALVA, 2007). Atualmente essa hipótese foi abandonada e acredita-se que o ritmo alfa tem um papel importante no mecanismo neural envolvido com processos comportamentais (JENSEN; MAZAHERI, 2010).

O ritmo beta (15-30 Hz) foi primeiramente associado ao córtex motor primário. Desde então, outros trabalhos também têm encontrado relações entre esta oscilação e as funções motoras (ENGEL; FRIES, 2010). Estudos forneceram evidências de que o ritmo beta é particularmente pronunciado durante contração muscular e atenuado por movimentos voluntários (RIDDLE; BAKER, 2006). Em macacos, aparecem durante movimentos exploratórios táteis (BROVELLI et al., 2004). Além disso, outros estudos indicam que o ritmo beta também está envolvido em processos de integração sensoriomotor e sinalização do tipo top-down (ENGEL; FRIES; SINGER, 2001).

O ritmo gama (30-80 Hz) é uma oscilação rápida, normalmente encontrado durante o processo de atenção (MALIK; AMIN, 2017). Tem-se observado esse ritmo em várias regiões corticais de diferentes espécies. Por exemplo, a potência de gama é aumentada por estímulos sensoriais e em distintos fenômenos cognitivos, como atenção, memória de trabalho e aprendizagem (BAUER; PAZ; PARE, 2007; FRIES et al., 2001; PESARAN et al., 2002). Adicionalmente, o ritmo gama possui um papel importante no processo de integração da informação sensorial (RICHTER et al., 2017).

Muitos ritmos coexistem temporariamente na mesma região, ou em diferentes áreas, ao mesmo tempo. Assim, quando regiões distintas estão com o mesmo padrão de oscilação, podemos dizer que estão sincronizadas (FELL; AXMACHER, 2011). Caso a sincronização ocorra no mesmo ângulo de fase ocorre uma sincronização de fase (PIKOVSKY; ROSENBLUM; KURTHS, 2001).

Na natureza existem vários processos que ocorrem em sincronização de fase. Um exemplo é o comportamento de vaga-lumes do Sudeste Asiático: isoladamente, os vaga-lumes piscam com frequências diferentes uns dos outros. Após algum tempo, começam a ficar sensíveis ao comportamento dos outros e começam a sincronizar. Depois de algum tempo, todos os vaga-lumes, dentro de uma determinada região, começam a piscar simultaneamente. Através de experimentos também foi possível induzir vaga-lumes piscarem em uma determinada frequência (STROGATZ, 2000).

A sincronização de fase é amplamente estudada no cérebro, uma vez que ela tem um importante papel em processos cognitivos. Tem sido relacionada à integração de informações em larga escala (VARELA et al., 2001), eficiência de troca de informações (FRIES, 2005) e memória de trabalho e de longo prazo (FELL; AXMACHER, 2011). As medidas de correlação no domínio da frequência são as ferramentas mais amplamente utilizadas para medir a sincronização de fases, que é normalmente usada para inferir interações entre as áreas do cérebro.

Uma forma de medir como dois sinais estão relacionados é através da coerência. A coerência é uma ferramenta matemática que permite quantificar se existe uma relação de fase entre dois sinais. Assim, dois sinais que são muito parecidos possuem valor de coerência próximo a 1, já sinais que são muito diferentes possuem um valores de coerência próximo a 0 (BOWYER, 2016).

A coerência entre dois sinais não revela a influência que uma região exerce sobre a outra, ou seja o fluxo de informação. Ela apenas mostra que duas regiões têm componentes de sinal semelhantes, e provavelmente estão conectadas. Todavia, a coerência sozinha não pode revelar as influências exercidas entre regiões. Normalmente a fase relativa era usada para indicar a influencia direcional, contudo trabalhos têm mostrado que a nem sempre a fase relativa indica a influencia direcional (MATIAS et al., 2013; MATIAS et al., 2014; SALAZAR et al., 2012). Técnicas como causalidade de Granger e entropia de transferência podem determinar quais áreas do cérebro estão enviando e / ou recebendo informações.

A Causalidade de Granger (GC, do inglês Granger Causality) é um método que tem sido utilizado para entender as relações causais entre duas séries temporais. A análise de GC fornece as interações funcionais com a direção causal a partir de dados de séries temporais (SETH; BARRETT; BARNETT, 2015).

A GC surgiu para analisar séries temporais econômicas e determinar se uma série temporal é útil para prever o comportamento de outra série. Uma série  $X(t)$  Granger-cause que  $Y(t)$  se os valores passados de  $X(t)$  fornecem informações úteis para prever o futuro de  $Y(t)$  (GRANGER, 1969).

A GC tem auxiliado a responder importantes questionamentos sobre a comunicação entre áreas cerebrais, tendo como referência registros eletrofisiológicos e técnicas de neuroimagem (BROVELLI et al., 2004; DESHPANDE; SATHIAN; Xiaoping Hu, 2010; MATIAS et al., 2014; SALAZAR et al., 2012; SETH; BARRETT; BARNETT, 2015; ZHANG et al., 2012).

Recentemente um tipo de sincronização contra intuitiva chamada de sincronização antecipada (SA) (VOSS, 2000) foi descoberta. Sua ocorrência foi reportada em sistemas dinâmicos autônomos acoplados de forma unidirecional em uma configuração mestre-escravo (MS), onde o sistema mestre influencia o escravo, porém a atividade do sistema escravo precede a do sistema mestre, de certa forma prevendo sua trajetória.

Voss (2000) conjecturou que deveria ser investigado regimes de SA em sistemas fisiológicos, uma vez feedback dinâmicos, com atrasos, devem ter alguma relevância para esses sistemas. Além do mais, partindo da princípio que oscilações neurais, em fase, possuem um importante papel para a comunicação neural, esse tipo dinâmica poderia ser uma forma eficiente de permitir uma configuração dinâmica para os processos de comunicação neural.

Um dos primeiros trabalhos que explorou SA em sistemas neurais foi o Ciszak et al. (2003), utilizando modelos neurais de FitzHugh-Nagumo acoplados de forma unidirecional com a presença de um auto feedback negativo em relação ao escravo. Recentemente uma série de trabalhos tem reportado regimes de SA em outros modelos neurais. Matias et al. (2014) ao também encontraram essa mesma dinâmica ao modelaram neurônio acoplados através de sinapse química. Além disso Matias et al. (2014) também simulou dados experimentais e conseguir encontrar regimes de SA em ambos.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 GERAL

Desenvolver um sistema de baixo custo capaz de executar diferentes testes comportamentais com um sistema de *handshaking* associado ao registro da atividade neural.

### 3.2 ESPECÍFICOS

- Construir um sistema comportamental de baixo custo utilizando Arduino;
- Testar a eficiência do sistema com diferentes paradigmas comportamentais;
- Realizar registros eletrofisiológicos simultâneos ao paradigma comportamental;
- Desenvolver um sistema que atenuar ruídos inerentes do sistema comportamental no registro eletrofisiológico;
- Realizar estudos de sincronização neural durante a execução um paradigma comportamental;
- Investigar a existência de sincronização antecipada durante a execução de uma tarefa comportamental.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizados sete ratos adultos da variedade Long-Evans, *Rattus norvegicus*, pesando aproximadamente 300g no início do experimento. Os animais foram obtidos do biotério do Laboratório de Neurociência dos Sistemas e Computacional do Departamento de Física da UFPE (Recife, Brasil). Os animais foram alojados em gaiolas e mantidos no ciclo claro/escuro de 12/12 horas e tiveram livre acesso a água e ração comercial Presence (Neovia - Paulínia, Brasil), até o início do treinamento. Os animais foram mantidos em restrição alimentar, mas com oferta hídrica ad libitum. O peso corporal dos mesmos foi controlado e mantido em 90% do peso, em relação ao peso inicial. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais (CEUA) da UFPE (CEUA: 24/2016), de acordo com os princípios básicos para animais de pesquisa estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

### 4.2 ELETRODOS

Foram confeccionadas matrizes de microeletrodos no Laboratório de Neurociência de Sistemas e Computacional (LNSC) do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco. Normalmente as matrizes produzidas no LNSC são de 32 microeletrodos com uma configuração de 4 x 8 (Figura 4). Esse tipo de configuração permite o seu implante em somente uma região ou regiões próximas. Como desejávamos realizar o registro para diferentes regiões fizemos uma modificação dos modelos utilizados no LNSC (NETO, 2015).

Construímos uma matriz com fios de tungstênio de  $50\mu\text{m}$  revestido com teflon (California Fine Wire Company), soldados em uma placa de circuito impresso, conectados a um mini conector (Omnetics Connector Corporation, Minneapolis, MN). Os microeletrodos foram configurados para serem implantados no córtex pré-frontal (CPF), córtex motor primário (M1), córtex somatossensorial primário (S1), córtex parietal posterior (PPC) e córtex visual primário (V1), cada região com quatro eletrodos juntos, semelhante a um tetrodo.

Nossa matriz possui um total de 20 eletrodos, quatro para cada região. Primeiramente é necessário separar os instrumentos que serão utilizados, isso corresponde a: lupa microscópica, tesoura de carboneto de tungstênio, pinças de relojoeiro, hemostática, colibri e resina composta fluida fotopolimerizável. Em seguida é preparada uma base onde serão colados os eletrodos. Esta base é feita com pedaços da placa de circuito impresso (PCI), com as dimensões de 2 x 4 mm. No meio dessa base foi tracejada uma linha que servirá

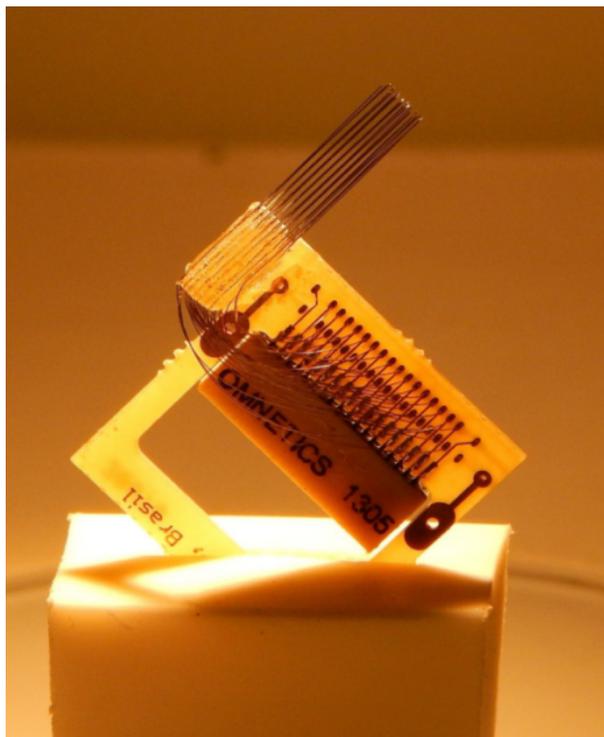


Figura 4 – Matriz multieletrodos. Matriz produzida no LNSC de 32 microeletrodos e configuração 4 x 8, normalmente utilizadas para registro em uma única região. Adaptado de Neto (2015)

como guia para ser posicionados os microeletrodos. Do outro lado da base é colada, com super cola, uma cânula, com 15 mm de comprimento. Assim essa cânula é acoplada ao *holder* no braço do estereotáxico (Figura 5).

O fio de tungstênio vem de fábrica com 30 cm de comprimento e foi necessário corta-lo em segmentos de 50 mm (Figura 5a). O corte é feito com uma tesoura de precisão (lâmina reforçada por uma liga de carboneto de tungstênio), de forma que o corte era com secção inclinada. Em seguida, com o auxílio de um cotonete umedecido os quatro segmentos foram alinhados e aproximados (Figura 5a). Devido à tensão superficial da água os fios ficam juntos (Figura 5b), o que permite que sejam posicionados sobre a base. Após serem posicionados são alinhados e recebem uma gotícula de resina (Figura 5c) e logo em seguida é feita a fotopolimerização (Figura 5d). Esses procedimentos foram repetidos cinco vezes, uma para cada região.

Para facilitar o manuseio e a soldagem, na PCI, na outra extremidade do segmento de fio (7,5 mm) foi adicionada uma gotícula de cola epoxi. A cola epoxi evita que os microeletrodos se espalhem após a evaporação da água. Um conector Omnetics é alinhado e soldado na PCI (Figura 5e). Depois da secagem da cola epóxi, os microeletrodos também foram soldados na PCI, com solda em pasta. É importante que essa porção dos microeletrodos que serão soldados na PCI sejam desencapados para terem contato com o interior do orifício da PCI (Figura 5f). Na PCI ainda há um espaço para ser inserido os

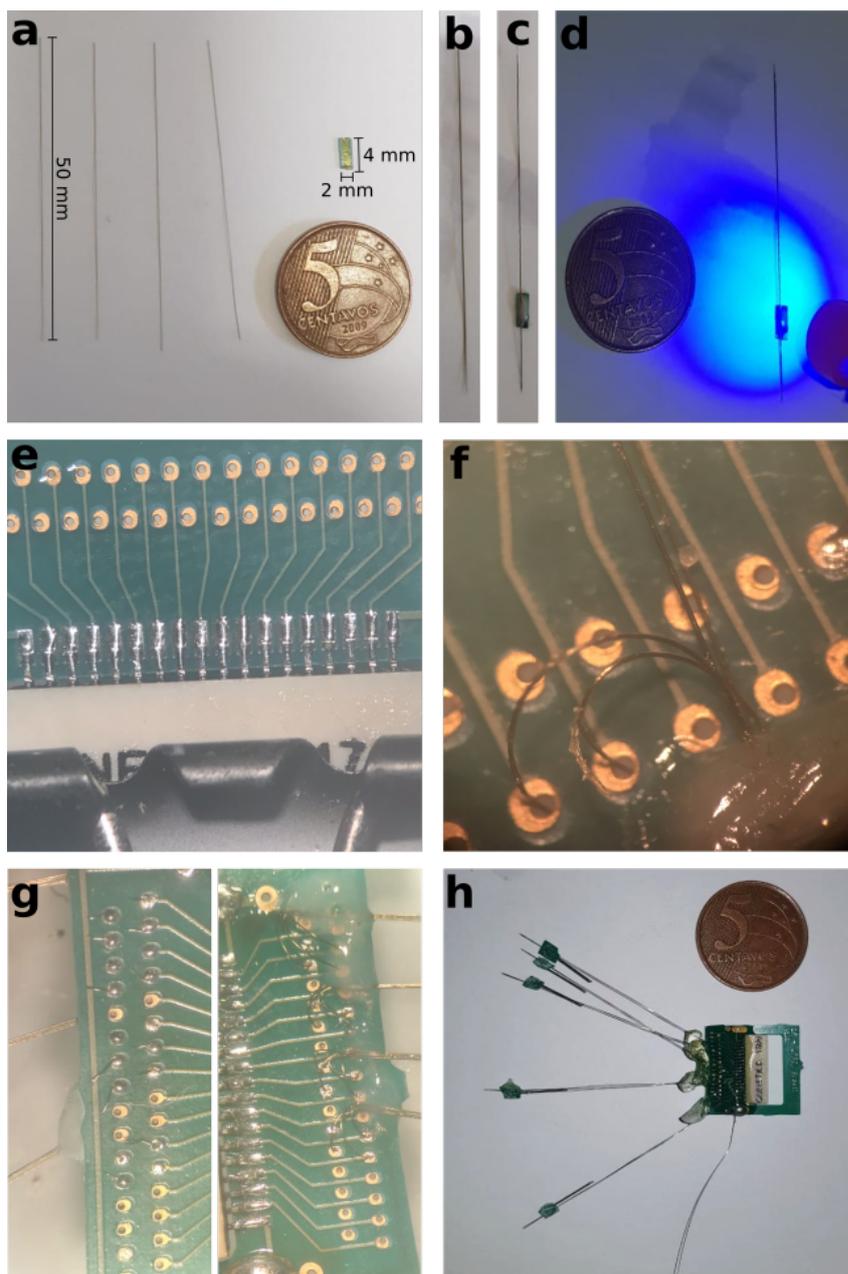


Figura 5 – Construção da matriz de microeletrodos. a - Fios de tungstênio com 50 mm de comprimento, junto com a base. b - Fios unidos através da tensão superficial da água. c - Fios posicionados no centro da base com uma gotícula de resina fotopolimerizável. d - fotopolimerização. e - Soldagem do mini conector à PCI. f - soldagem dos fios desencapados na PCI. g - fios soldados na PCI (dois lados). h - Matriz finalizada.

fios terra que serão conectados aos parafusos inseridos no crânio do rato.

A matriz é concluída com o isolamento da região de contato entre a PCB e microeletrodos com cola epóxi (Figura 5h). Além do isolamento, a epóxi confere uma maior estabilidade mecânica ao corpo da matriz.

### 4.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Para a realização do implante da matriz, os animais passaram por um procedimento cirúrgico. Primeiramente eles foram anestesiados, via intraperitoneal (IP) com quetamina (150 mg/kg) e xilasina (5 mg/kg). Em seguida, foi realizada a tricotomia do couro cabeludo. Quando verificada a ausência de reflexos de pata e cauda, o animal teve a cabeça fixada na base de um estereotáxico. Foi feita a assepsia com iodo e clorexidina. Posteriormente, foi aplicado 0,2 ml de lidocaína (2%) por via subcutânea na linha sagital da cabeça do animal.

Uma incisão de pele foi realizada de forma a expor o periósteo, que foi removido em seguida, expondo a superfície de crânio. Realizaram-se cinco craniotomias, uma para cada conjunto de microeletrodo, e mais cinco para parafusos para aterramento e sustentação do capacete. As craniotomias para os eletrodos foram feitas no hemisfério direito seguindo as seguintes coordenadas a partir do bregma anteroposterior (AP), mediolateral (ML), dorsoventral (DV): CPF (AP: 4,00; ML: 0,50; DV: -3,70), M1 (AP: 2,00; ML: 2,50; DV: -1,50), S1 (AP: 0,84; ML: 4,00; DV: -2,00), PPC (AP: -4,36; ML: 4,20; DV: -1,80), V1 (AP: -7,20; ML: 3,50; DV: -1,50) (Figura 6).

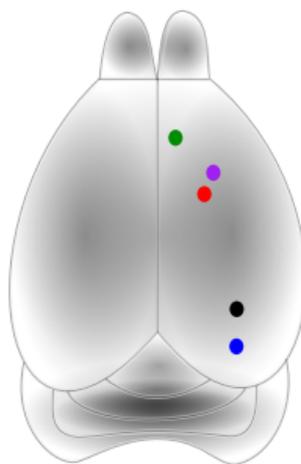


Figura 6 – Cérebro de rato com esquemas de cores mostrando as áreas onde foram inseridos eletrodos. Os pontos de cores verde, roxo, vermelho, preto e azul correspondem ao córtex pré-frontal (CPF), córtex motor primário (M1), córtex somatossensorial primário (S1), córtex posterior parietal (PPC) e córtex visual primário (V1), respectivamente.

Cada conjunto, com quatro microeletrodos, foi inserido no tecido cerebral individualmente. Para isso foi usada uma cânula *holder* que descia o conjunto lentamente até a coordenada dorso ventral desejada. Ao chegar na coordenada ele era fixado com acrílico dental.

Ao final da cirurgia o rato passava por protocolo de anti-inflamatório e antibióticos. Para a terapia de antibiótico foi usado o Pentabiótico (0,1 mg/mL, via intramuscular)

em dose única imediatamente ao término do procedimento cirúrgico. O anti-inflamatório usado foi o Meloxicam (1 mg/kg, via subcutânea) por dois dias, a cada 12 horas.

#### 4.4 REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO

A aquisição do sinal eletrofisiológico ocorreu através da plataforma System 3 da Tucker Davis Technologies TDT de 32 canais. O sinal foi adquirido simultaneamente com a atividade comportamental através das portas digitais Sync. Foi utilizada uma taxa de amostragem de 24414Hz com um filtro passa banda de 0,1 Hz à 5 KHz. Um comutador foi usado para permitir o registro do rato em livre movimento. O Sistema de registro eletrofisiológico pode ser observado na Figura 7.

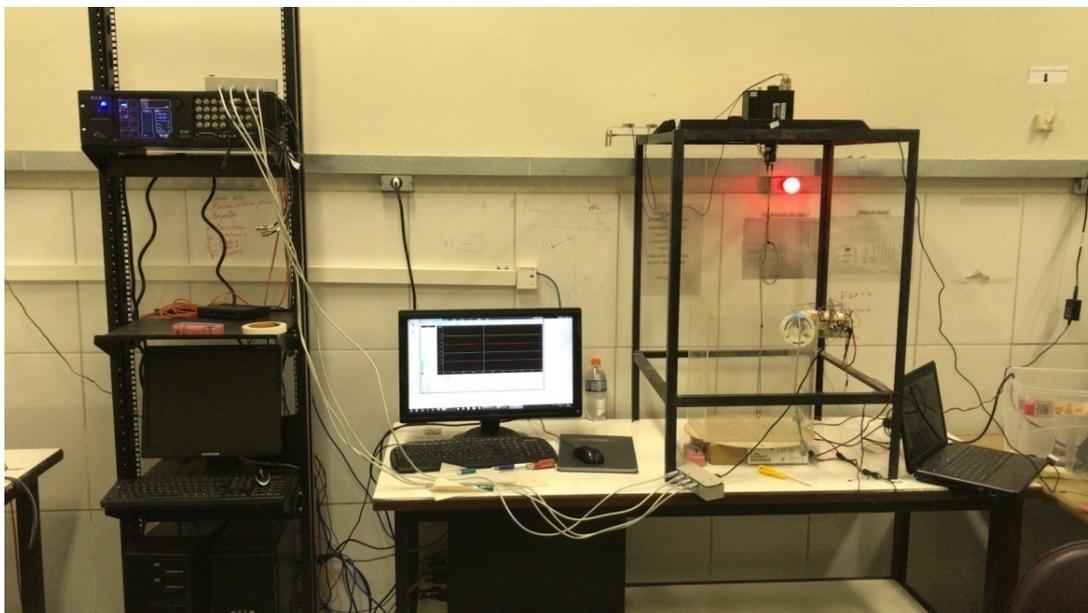


Figura 7 – Sistema de registro eletrofisiológico junto com o sistema comportamental

#### 4.5 APARATO COMPORTAMENTAL

Foi desenvolvida uma caixa de condicionamento operante (25 x 25 x 30 cm) contendo: Disco liberador de pelete alimentar; Placa de circuito impresso (PCI) e Arduino; Sincronização com o sistema de aquisição eletrofisiológico (Ephys). O aparato comportamental foi desenvolvido com materiais de baixo custo que pode ser comprado em lojas de material eletrônico.

O principal componente do sistema é o Arduino Uno. Ele foi usado como o controlador central do sistema. Este microcontrolador funcionava em ciclos, independente do computador, monitorando o estado da alavanca, gerando estímulos e analisando qual ação deve executar, de acordo com a resposta do rato. Além do mais é responsável pelo

registro de todos os eventos que ocorrem na caixa de condicionamento e gera um sinal de sincronização (Sync) para o Ephys (Figura 7).

### 4.5.1 Hardware

#### 4.5.1.1 Disco dispensador de pelete alimentar

Foi desenvolvido um dispensador de pelete alimentar com o intuito de liberar pequenos peletes esféricos de sacarose, com cerca de 50 mg, que foram utilizados como recompensa nas tarefas comportamentais (Figura 8).

O dispensador é formado por um disco de acrílico (polimetil-metacrilato) opaco que está acoplado a um motor de passo, como é possível observar na Figura 8. O disco possui um conjunto de dois furos alinhados, um furo maior seguido por um furo menor. Os furos maiores servem para acomodar os peletes e possuem 0,50 mm de diâmetro. Já os furos menores estavam alinhados com um sensor de luz infravermelho (IR, do inglês *Infrared*), para monitorar o movimento do disco, evitando a perda de calibração do posicionamento do motor de passo.

#### 4.5.1.2 Placa de circuito impresso e Arduino (Eletrônica)

O disco de liberação de peletes foi posicionado sobre uma placa de circuito impresso (PCI), do outro lado foi montado um circuito que era responsável por fazer a alimentação do Arduino, gerar os estímulos visuais, realizar a leitura da condição da alavanca e do sensor IR, chavar as bobinas do motor de passo.

O circuito é alimentado por uma bateria de 12 V onde circula duas linhas de alimentação, uma de 12V e outra de 5V. A linha de 12 V é usada para alimentar o Arduino e controlar a rotação do motor de passo. O motor utilizado foi um compacto de alto torque (24BYJ48) que possui um conjunto de quatro bobinas. Cada bobina, do motor, está ligada a um transistor (BD-137) que chaveia a tensão de 12 V, assim quando o Arduino envia um sinal TTL (do inglês *Transistor-Transistor Logic*), para o CI, o circuito do transistor é fechado e permite a alimentação da bobina. Consequentemente, quando o Arduino envia uma sequência de TTL se obtém a rotação do disco.

A linha de 5V foi feita através de um regulador de tensão 7805. A linha de 5 V alimenta a alavanca, que vem da CCO, os estímulos luminosos, que são ativados através de TTL do Arduino e o sensor de IR. Toda vez que a alavanca é pressionada um sinal TTL é enviado para a porta digital 10, do Arduino, que está programada para fazer leituras. O Arduino conta e registra o tempo em que a alavanca permaneceu pressionada. Quando é necessário mostrar um estímulo do tipo Go ou SRT, isso é feito pela porta digital 13 e quando é do tipo NoGo pela porta 12. Para rotacionar o motor de passo o arduino envia uma sequência de pulsos, através das portas 2, 3, 4 e 5, para o CI.

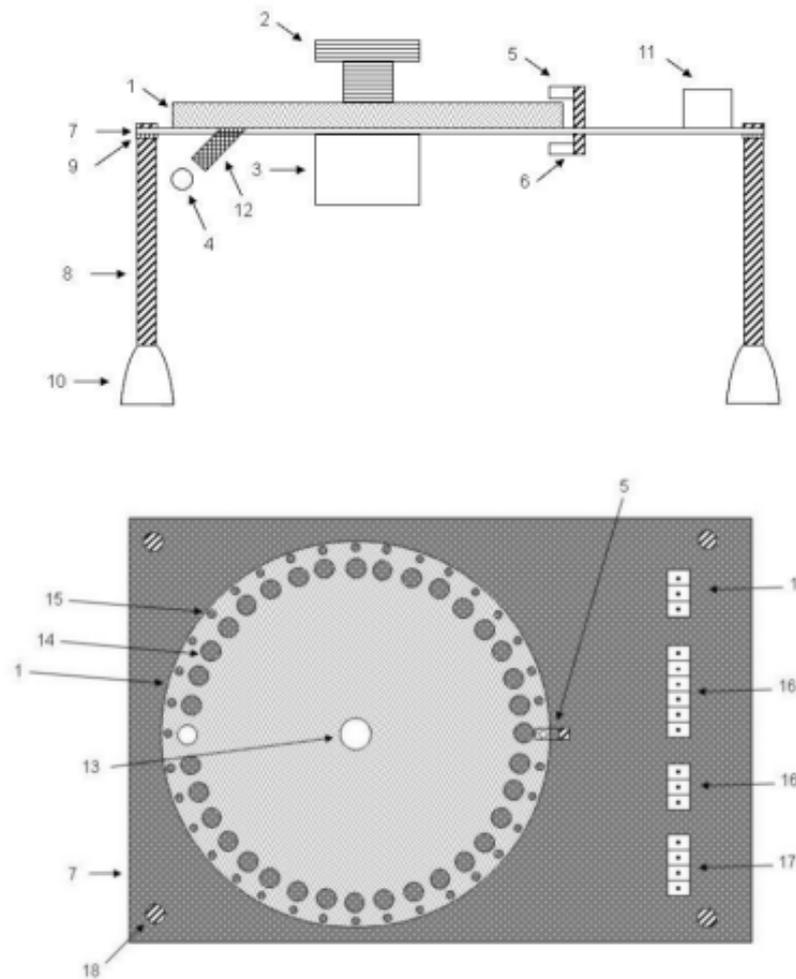


Figura 8 – Disco liberador de pelete. *Vista lateral* do dispensador de peletes alimentares constituído por: (1) disco de liberação de peletes; (2) adaptador do motor; (3) motor de passo; (4) pelete alimentar; (5) emissor de luz infravermelha; (6) receptor de luz infravermelha; (7) base de sustentação; (8) hastes rosqueada de sustentação; (9) porca; (10) bases de haste; (11) conectores para alimentação do circuito; (12). *Vista superior* do dispensador de peletes alimentares constituído por: (1) disco de liberação de peletes; cânula de liberação; (13) perfuração central; (14) furo maior; (15) furo menor; (7) base de sustentação; (11) conectores para alimentação do circuito eletrônico; (16) conectores para o microcontrolador; (17) conectores para barras da caixa de comportamento; (18) furo para hastes rosqueadas de sustentação.

Assim que o motor de passo rotaciona conseqüentemente movimenta o adaptador que está conectado ao disco de liberação de peletes, liberando um pelete, pela cânula de liberação. O furo no CI permite a passagem de um único pelete quando movimentado pelo motor de passo. A base também possui um pequeno furo, de forma que o disco deve ter o furo menor posicionado sob o receptor de luz infravermelha e sobre o emissor, assim quando o disco é movimentado, o receptor detecta a emissão da luz infravermelha. O receptor de IR (Tsop1838) envia um sinal TTL para a porta 11 do Arduino, assim que identifica

a presença da luz IR. Esse sinal serve para iniciar o protocolo de parar de rotacionar o motor.

#### 4.5.1.3 Comunicação óptica

Uma das grandes vantagens de usar o Arduino é a resolução temporal do mesmo. Assim é possível registrar todos os eventos comportamentais, que ocorrem dentro da CCO, com uma precisão temporal de milissegundos. Os registros da atividade comportamental podem ser realizado de duas formas. Uma através da leitura da porta serial do Arduino, o que torna necessário o utilização de um computador, ou através de sinais TTL gerados pelo Arduino, que são enviados para o Ephys.

O registro dos eventos comportamentais através da porta serial é importante quando se deseja realizar uma sessão, mas não se tem o interesse de fazer o registro da atividade elétrica. Assim todos os eventos como: pressionar a alavanca, soltar a barra, ligar estímulo, apagar estímulo, liberar pelete, são gerados e gravados em um computador.

Contudo, quando se deseja realizar o registro eletrofisiológico é importante que sejam eliminadas fontes de ruído elétrico. Tentando contornar esse problema, foi utilizada uma fibra óptica para enviar o sinal e realizar a sincronização dos eventos comportamentais com o registro eletrofisiológico.

Essa sincronização ocorre da seguinte forma: quando o animal pressiona a barra, o Arduino envia um sinal de 5V para uma porta digital específica. Essa porta está conectada a um conversor que transforma o sinal digital em luz. A luz é conduzida por uma fibra óptica até o SAE. Junto ao SAE existe um receptor que converte o sinal luminoso em um sinal elétrico que está conectado com o sistema de sincronização do SAE. Com o envio dos TTL para o SAE, a presença de um computador *host*, para registrar os eventos comportamentais, torna-se facultativa, o que elimina a presença de um possível produtor de ruído elétrico (Figura 9).



Figura 9 – Esquema elétrico do sistema de comunicação óptica. Um diodo converte o sinal elétrico do arduino em uma luz que é conduzida por uma fibra óptica. No final da fibra óptica tem um receptor que converte a luz em sinal elétrico.

#### 4.5.2 Software

O Arduino possui um ambiente de desenvolvimento integrado (IDE, do inglês *Integrated development environment*), no qual é possível escrever o código utilizando a

linguagem de programação em C, compilar e enviar o código para a placa Arduino. Para cada teste comportamental foi feito um programa específico.

### 4.5.3 Protocolo comportamental

#### 4.5.3.1 FR1

Inicialmente os animais precisam aprender a associar a ação de pressionar a alavanca com a liberação de pelete de açúcar (reforço positivo). Para tal, antes de iniciarem as sessões de SRT e DRRD os animais passam por sessões de FR1. Durante as sessões de FR1 o estímulo luminoso fica ligado durante toda a sessão, que dura 60 minutos. A trial inicia quando o animal pressiona a alavanca e no instante que solta recebe uma recompensa, no caso um pelete alimentar de sacarose. Os animais são considerados treinados quando atingem um número de 100 respostas ao longo de uma sessão. O FR1 torna a aprendizagem dos outros testes mais rápida, contudo acaba aumentando a frequência de atividade precoce, durante os outros testes.

#### 4.5.3.2 SRT

A trial é iniciada quando o animal pressiona a alavanca. Quando a pressão da alavanca é mantida por mais de 500 ms era mostrado um estímulo luminoso (três LEDs) em forma de uma barra vertical. Para receber a recompensa, no caso o pelete, o animal deve soltar a alavanca em até 1000 ms (janela de resposta), após o aparecimento do estímulo, este comportamento esperado é chamado de resposta correta. Dois comportamentos são indesejados: o de soltar a alavanca antes do estímulo ser apresentado (resposta prematura) e de soltar a alavanca após a janela de resposta (resposta errada), ambas não são reforçadas com recompensa alimentar.

#### 4.5.3.3 DRRD

A trial é iniciada quando o animal pressiona a alavanca. Os animais devem manter a alavanca pressionada por mais de 1500 ms para receber a recompensa. Trials em que o animal solta a alavanca antes de 1500 ms são consideradas inválidas.

### 4.5.4 Análise de dados

No primeiro artigo foi feita análise espectral para verificar a presença de ruído elétrico no registro durante a realização de uma tarefa comportamental. No segundo artigo foi feita análise espectral para identificar a presença de sincronização entre distintas regiões.

Selecionamos 400 ms finais das trials DRRD para analisar a sincronização entre o CPF e PPC. Esses segmentos foram divididos em três condições, em relação ao tempo pressão na alavanca ( $\Delta T$ ): *Prematura* (Pre) com  $\Delta T \leq 1000$  ms (número total de tentativas

( $n = 128$ ), *Quase* com  $1000 < \Delta T \leq 1500$  ms ( $n = 20$ ), e *Recompensadas* (Rw) com  $\Delta T > 1500$  ms ( $n = 75$ ).

Foi utilizado um filtro passa-baixa (0-100 Hz) nos segmentos e em seguida foram subamostrados para uma taxa de 195 Hz. Para analisar as potências das ondas e sincronização entre as regiões calculamos a densidade espectral (PSD, do inglês *Power Spectral Density*) e a coerência dos sinais pela transformada de Fourier. Para analisar a causalidade entre as duas regiões foi calculada a causalidade de Granger.

#### 4.5.4.1 Transformada Fourier

Uma série temporal corresponde a um conjunto de observações que são feitas ao longo do tempo. A análise do domínio da frequência tem sido uma importante ferramenta para fornecer uma compreensão mais clara sobre a série (COOLEY; LEWIS; WELCH, 1967).

Usando a Transformada de Fourier (FT, do inglês *Fast Fourier Transform*) é possível converter um sinal do domínio do tempo para uma representação no domínio da frequência (Figura 10). A transformada de Fourier decompõe a série temporal em vários outros sinais senoidais com diferentes frequências. Dada uma função integrável  $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{C}$  isso é feito através da equação:

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} e^{i\omega t} f(t) dt \quad (4.1)$$

onde  $\omega$  corresponde a frequência angular ( $\omega = 2\pi f$ ). Aplicando a Transformada de Fourier à serie temporal é possível identificar as diversas frequências que compõem um sinal.

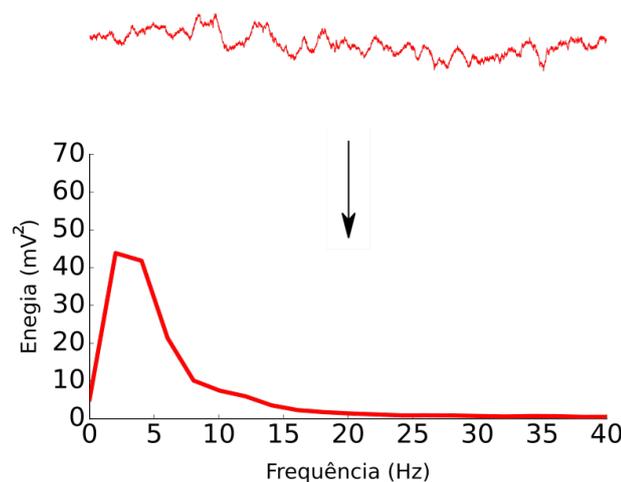


Figura 10 – Uma amostra de um sinal de LFP da região S1 seguido pela sua densidade espectral de potência.

Numericamente é possível calcular a transformada de Fourier utilizando algoritmo de transformada rápida de Fourier. Nesta tese, todas as transformadas foram calculadas

utilizando a biblioteca SciPy do Python.

#### 4.5.4.2 Coerência espectral

A coerência é uma medida estatística que informa a relação entre dois sinais (BENDAT; PIERSOL, 2000). Dados dois sinais  $x(t)$  e  $y(t)$ , a coerência pode ser escrita como:

$$C_{xy} = \frac{|S_{xy}|^2}{S_{xx}S_{yy}} \quad (4.2)$$

onde  $S_{xy}$  é a densidade espectral cruzada entre as séries  $x$  e  $y$  e  $S_{xx,yy} = |F_{x,y}(\omega)|^2$  é a densidade espectral do sinal  $x(t)$ ,  $y(t)$ .

Os valores de coerência são normalizados de modo que  $0 \leq C_{xy} \leq 1$ . Assim um sistema linear de parâmetro constante ideal com uma única entrada  $x(t)$  e saída única  $y(t)$ , a coerência será igual a um. A coerência espectral foi calculada no Python usando o SciPy *packages* (Figura 11).

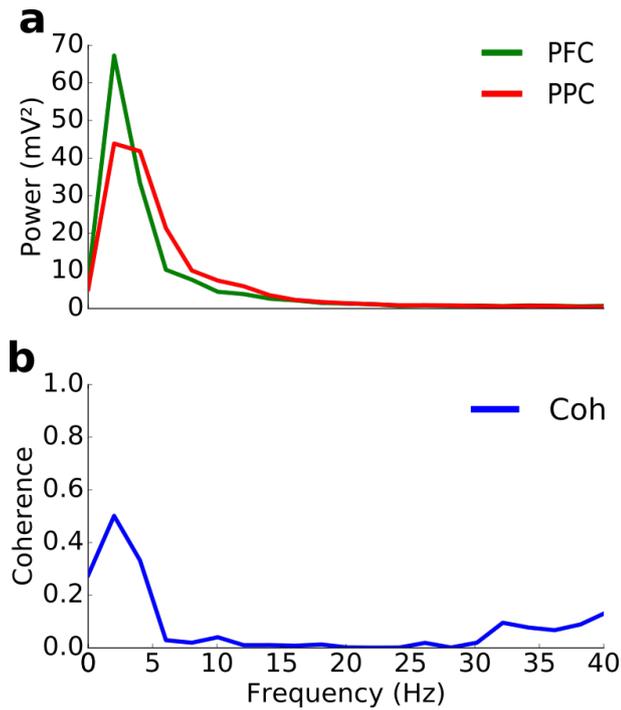


Figura 11 – (a) Densidade espectral de potência do CPF (verde) e PPC (vermelho), mostrando um pico de densidade em 4 Hz para ambas regiões. (b) coerência entre o CPF e PPC, mostrando um pico de coerência em 4 Hz entre PPC e CPF.

#### 4.5.4.3 Causalidade de Granger

A relação causal entre duas séries podem ser inferidas através da causalidade de Granger (GC, do inglês *Granger Causality*) (SETH; BARRETT; BARNETT, 2015). A

GC é um teste estatístico que quantifica o quanto o passado de uma série é útil para a previsão de estado atual de outra série (Figura ??). Foi proposta pela primeira vez por Granger (1969) para aplicações na economia.

De acordo com a causalidade de Granger, se uma série  $X$  Granger-causa uma série  $Y$ , então os valores do passado de  $X$  devem conter informações que ajudem a prever  $Y$  (Figura 12). Por outro lado se a série  $Y$  Granger-causa a série  $X$ , então os valores do passado de  $Y$  devem conter informações que ajudem a prever  $X$ .

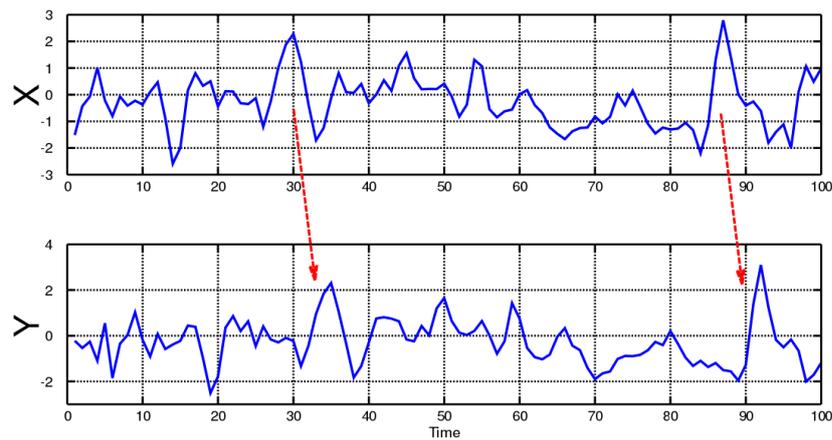


Figura 12 – Um exemplo de quando a série temporal  $X$  Granger-causa a série temporal  $Y$ , os padrões temporais de  $X$  são repetidos em  $Y$ , após um intervalo de tempo (setas). Assim, os valores do passado de  $X$  podem ser usados para prever os valores futuros de  $Y$ .

Assim, de acordo com a GC,  $Y$  causa  $X$  se a inclusão de passado de  $Y$  reduz o erro para prever os valores  $X$  em um modelo de regressão linear  $X$  e  $Y$ , em comparação com um modelo que inclui apenas as observações de  $X$ . Assim é possível ilustrar a GC, supondo que a estrutura temporal de duas séries  $X(t)$  e  $Y(t)$  (ambas de tamanho  $T$ ) podem ser descritas por um modelo bivariável autoregressivo:

$$X(t) = \sum_{k=1}^p A_{xx,k} \cdot X_{t-k} + \sum_{k=1}^p A_{xy,k} \cdot Y_{t-k} + \xi_{x,t} \quad (4.3)$$

$$Y(t) = \sum_{k=1}^p A_{yx,k} \cdot X_{t-k} + \sum_{k=1}^p A_{yy,k} \cdot Y_{t-k} + \xi_{y,t}, \quad (4.4)$$

onde  $p$  é o número máximo de observações com atraso incluídas no modelo (a ordem do modelo,  $p < T$ ),  $A_{xx}$  contem o coeficiente do modelo, e  $\xi_1, \xi_2$  são os resíduos (erros da previsão) para cada série temporal. Se a variança de  $\xi_1$  (ou  $\xi_2$ ) é reduzido pela inclusão dos termos  $Y$  (ou  $X$ ) na primeira (ou segunda) equação, então é possível dizer que  $Y$  (ou  $X$ ) Granger-causa  $X$  (ou  $Y$ ). Assumindo que  $Y$  e  $X$  são séries estacionários, ou seja média e desvio padrão são constantes ao longo da série, a magnitude dessa interação pode

ser medida pela razão das variâncias de erro de predição para os modelos restrito ( $R$ ) e irrestrito ( $U$ ):

$$F_{Y \rightarrow X} = \ln \frac{\text{var}(\xi_{XR(XY)})}{\text{var}(\xi_{XU})} \quad (4.5)$$

$$X(t) = \sum_{k=1}^p A_{xx,k} \cdot X_{t-k} + \xi'_{x,t} \quad (4.6)$$

onde  $\xi_{XR(XY)}$  é derivado do modelo omitindo o coeficiente  $A_{xy,j}$  (para todos  $j$ ) na primeira equação e  $\xi_{XU}$  é derivado de todo o modelo. É importante observar que a GC pode ser facilmente representada a partir de modelos autorregressivos multivariados (MVAR, do inglês *multivariate autoregressive*), onde a GC de  $Y$  em  $X$  é testada no contexto de múltiplas variáveis adicionais.

É possível estimar GC no domínio da frequência usando a transformada de Fourier. Intuitivamente a GC espectral de  $X$  para  $Y$  mede o quanto de uma fração da potência de uma frequência  $f$  de  $X$  contribui para  $Y$ .

Usamos a *toolbox Granger causal connectivity analysis* (GCCA) no MATLAB para calcular a coerência, GC e diferença de fase baseados no MVAR. Escolhemos 10 (50 ms) como a ordem do modelo, uma vez que forneceu respostas espectrais condizentes com a PSD e coerências calculadas diretamente dos segmentos de LFP. Além do mais essa ordem de modelo reproduziu um comportamento semelhante de coerência calculada diretamente do LFP em relação com a coerência calculada do MVAR, mostrando que o MVAR foi capaz de reproduzir o comportamento espectral do LFP (Figure 13). Verificamos a consistência dos resultados usando ordens de modelo de de 10 a 15.

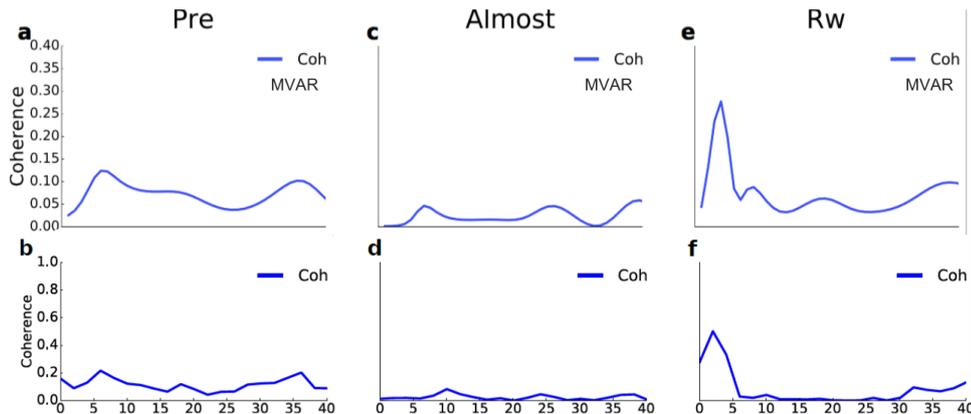


Figura 13 – Coerências do MVAR ( $a, c, e$ ) e calculada a partir do LFP ( $b, d, f$ ) apresentando comportamento espectral semelhantes entre os grupos (Pre, Almost e Rw).  $a$ . Pre trial Coerência (LFP);  $b$ . Pre trial Coerência (MVAR);  $c$ . Almost trial Coerência (LFP);  $d$ . Almos trial Coerência (MVAR);  $e$ . Rw trial Coerência (LFP);  $g$ . Rw trial Coerência (MVAR).

2) usar corretor ortografico achei varios erros simples de ortografia 3) equacoes sao parte do texto, entao devem vir com ponto final seguidas letra maiuscula no comecoda nova frase (ou paragrafo) , ou ter uma virgula no final. vou editar a eq 4.4 pra voce entender o que estou falando. 4) reler, reler, e reler de novo :)

#### 4.5.4.4 Detecção do potencial de ação

Foi usado a toolbox Wave\_Clus para fazer o *spike sorting* do LFP (*raw data*) (QUIROGA; NADASDY; BEN-SHAUL, 2004). O Wave\_Clus é uma toolbox que detecta formas de ondas em registros extracelulares e agrupa em *Clusters* (Figura 14). O Wave\_Clus recebe uma signal  $x$  (*raw data*) e em seguida é aplicado um filtro passa-banda de (300-500 Hz), chamado de  $x_f$  (*filtered data*) (Figura 15).

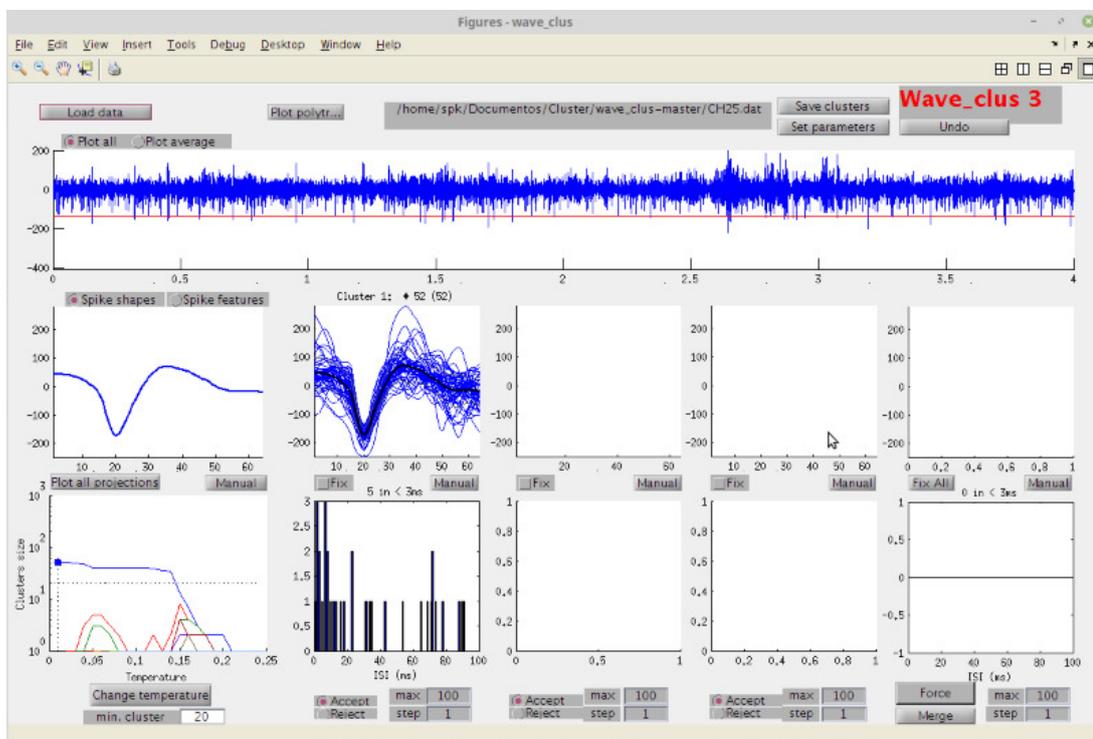


Figura 14 – Interface do Wave\_Clus

Uma função é aplicada no  $x_f$  para detectar e extrair os formatos de onda junto com as marcações de tempo (*timestamps*) de cada *spike*. Para detectar os *spikes* é utilizado um limiar (*threshold*) que correspondeu a 3 desvios padrões. O *threshold* corresponde a linha vermelha sobre o  $x_f$  (azul) observada na Figura 14.

Para formar os *clusters* o Wave\_Clu utiliza uma técnica de classificação de objetivos chamada de super-paramagnético, ele agrupa os *clusters* de acordo com uma variável chamada de temperatura. Para temperaturas baixas, todos os *spikes* são atribuídos a um único *cluster* e no limiar de uma temperatura cada *spike* formará um *cluster*. Amostras de *spikes* para diferentes regiões podem ser vistas na Figura (16)

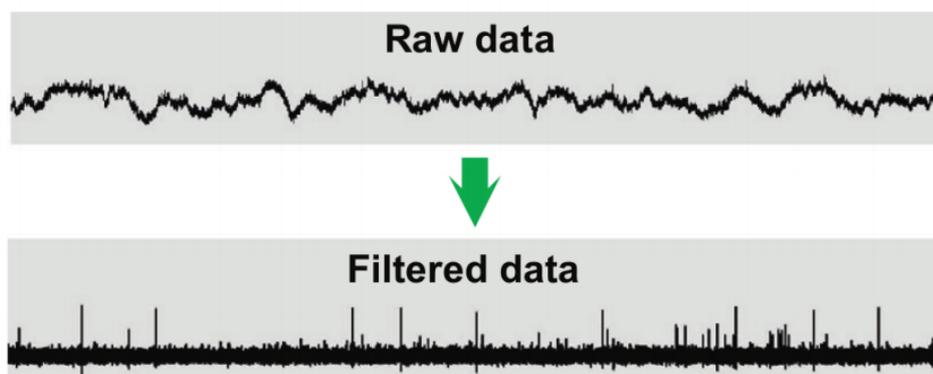


Figura 15 – Dados brutos *raw data* correspondem as oscilações de voltagem ao longo de tempo, foram coletados usando uma matriz de multieletrodos que são capazes de registrar além das oscilações de população a atividade unitária de neurônios. Após a filtragem *raw data* os *spikes* são evidenciados e o processo de detecção torna-se mais fácil. Modificado de Quiroga, Nadasdy e Ben-Shaul (2004).

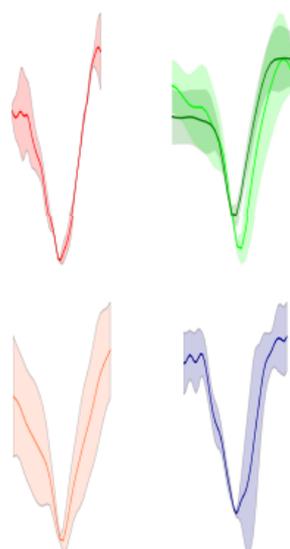


Figura 16 – Amostras de *spikes*. Esquema de cores é o mesmo descrito na Figura (6).

## REFERÊNCIAS

- ADRIAN, E. D.; MATTHEWS, B. H. The interpretation of potential waves in the cortex. *The Journal of physiology*, Wiley-Blackwell, v. 81, n. 4, p. 440–71, jul 1934.
- AMES, S. L. et al. Neural correlates of a go/nogo task with alcohol stimuli in light and heavy young drinkers. *Behavioural Brain Research*, v. 274, p. 382–389, nov 2014.
- ARON, A. R. et al. Erratum: Stop-signal inhibition disrupted by damage to right inferior frontal gyrus in humans. *Nature Neuroscience*, Nature Publishing Group, v. 6, n. 2, p. 115–116, feb 2003.
- ARON, A. R.; ROBBINS, T. W.; POLDRACK, R. A. Inhibition and the right inferior frontal cortex. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 8, n. 4, p. 170–177, apr 2004.
- BAIJOT, S. et al. EEG Dynamics of a Go/Nogo Task in Children with ADHD. *Brain Sciences*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 7, n. 12, p. 167, dec 2017.
- BARLOW, H. B. *Single units and sensation: A neuron doctrine for perceptual psychology?* [S.l.], 1972. v. 1, 371–394 p.
- BARRY, R. J.; JOHNSTONE, S. J.; CLARKE, A. R. A review of electrophysiology in attention-deficit/hyperactivity disorder: Ii. event-related potentials. *Clinical neurophysiology*, Elsevier, v. 114, n. 2, p. 184–198, 2003.
- BASAR, E.; GUNTEKIN, B. A short review of alpha activity in cognitive processes and in cognitive impairment. *International Journal of Psychophysiology*, Elsevier, v. 86, n. 1, p. 25–38, oct 2012.
- BAUER, E. P.; PAZ, R.; PARE, D. Gamma oscillations coordinate amygdalo-rhinal interactions during learning. *Journal of Neuroscience*, v. 27, n. 35, p. 9369–9379, aug 2007.
- BECHARA, A. et al. Dissociation of working memory from decision making within the human prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 18, n. 1, p. 428–437, jan 1998.
- BECHARA, A.; LINDEN, M. V. D. Decision-making and impulse control after frontal lobe injuries. *Current opinion in neurology*, LWW, v. 18, n. 6, p. 734–739, 2005.
- BENDAT, J. S.; PIERSOL, A. G. *Random Data: Analysis and Measurement Procedures*. 3rd. ed. New York, NY, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2000.
- BERGER, H. Über das elektrenkephalogramm des menschen. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, Springer, v. 87, n. 1, p. 527–570, 1929.
- BLOKLAND, A. Reaction time responding in rats. In: *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. [S.l.]: Pergamon, 1998. v. 22, n. 6, p. 847–864.
- BOKURA, H.; YAMAGUCHI, S.; KOBAYASHI, S. Electrophysiological correlates for response inhibition in a go/nogo task. *Clinical Neurophysiology*, Elsevier, v. 112, n. 12, p. 2224–2232, dec 2001.

- BOS, D. J. et al. Neural correlates of preferred activities: development of an interest-specific go/nogo task. *Social cognitive and affective neuroscience*, Oxford University Press, v. 12, n. 12, p. 1890–1901, 2017.
- BOULINGUEZ, P. et al. Warning signals induce automatic emg activations and proactive volitional inhibition: Evidence from analysis of error distribution in simple rt. *Journal of Neurophysiology*, v. 99, n. 3, p. 1572–1578, mar 2008.
- BOWYER, S. M. Coherence a measure of the brain networks: past and present. *Neuropsychiatric Electrophysiology*, BioMed Central, v. 2, n. 1, p. 1, dec 2016.
- BRESSLER, S. L.; KELSO, J. Cortical coordination dynamics and cognition. *Trends in Cognitive Sciences*, Elsevier, v. 5, n. 1, p. 26–36, jan 2001.
- BROVELLI, A. et al. Beta oscillations in a large-scale sensorimotor cortical network: directional influences revealed by granger causality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 26, p. 9849–54, jun 2004.
- BROWN, M. R. et al. Effects of emotional context on impulse control. *Neuroimage*, Elsevier, v. 63, n. 1, p. 434–446, 2012.
- BUZSAKI, G. Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron*, Cell Press, v. 33, n. 3, p. 325–340, jan 2002.
- BUZSAKI, G. Theta rhythm of navigation: Link between path integration and landmark navigation, episodic and semantic memory. *Hippocampus*, John Wiley & Sons, Ltd, v. 15, n. 7, p. 827–840, jan 2005.
- BUZSAKI, G. *Rhythms of the Brain*. [S.l.]: Oxford University Press, 2006.
- BUZSAKI, G.; DRAGUHN, A. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*, v. 304, n. 5679, p. 1926–1929, jun 2004.
- CAJAL, S. Ramon y. *Cajal's degeneration and regeneration of the nervous system*. Translation by R. M. May. [S.l.]: Oxford University Press, 1928. 769 p.
- CISZAK, M. et al. Anticipating the response of excitable systems driven by random forcing. *Physical review letters*, v. 90, n. 20, p. 204102, may 2003.
- COOLEY, J. W.; LEWIS, P. A.; WELCH, P. D. Historical notes on the fast fourier transform. *Proceedings of the IEEE*, IEEE, v. 55, n. 10, p. 1675–1677, 1967.
- COWEN, S. L.; MCNAUGHTON, B. L. Selective delay activity in the medial prefrontal cortex of the rat: Contribution of sensorimotor information and contingency. *Journal of Neurophysiology*, v. 98, n. 1, p. 303–316, jul 2007.
- CRIAUD, M.; BOULINGUEZ, P. Have we been asking the right questions when assessing response inhibition in go/no-go tasks with fmri? a meta-analysis and critical review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Pergamon, v. 37, n. 1, p. 11–23, jan 2013.
- DALLEY, J.; EVERITT, B.; ROBBINS, T. Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron*, Cell Press, v. 69, n. 4, p. 680–694, feb 2011.

- DELORME, A.; MAKEIG, S. Eeglab: an open source toolbox for analysis of single-trial eeg dynamics including independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 134, p. 9–21, 2004.
- DESHPANDE, G.; SATHIAN, K.; Xiaoping Hu. Assessing and compensating for zero-lag correlation effects in time-lagged granger causality analysis of fmri. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 57, n. 6, p. 1446–1456, jun 2010.
- DIMA, G. C.; COPELLI, M.; MINDLIN, G. B. Anticipated synchronization and zero-lag phases in population neural models. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, World Scientific, v. 28, n. 08, p. 1830025, 2018.
- DOLCOS, F.; IORDAN, A. D.; DOLCOS, S. Neural correlates of emotion–cognition interactions: A review of evidence from brain imaging investigations. *Journal of Cognitive Psychology*, v. 23, n. 6, p. 669–694, sep 2011.
- DOLZANI, S. D.; NAKAMURA, S.; COOPER, D. C. A novel variable delay go/no-go task to study attention, motivation and working memory in the head-fixed rodent. *F1000Research*, v. 2, mar 2014.
- DOMJAN, M. *Domjan and Burkhard's "The principles of learning and behavior" (3rd ed.)*. [S.l.]: Brooks/Cole Pub. Co, 1993. 459–xviii, 459 p.
- ENGEL, A. K.; FRIES, P. Beta-band oscillations–signalling the status quo? *Current opinion in neurobiology*, v. 20, n. 2, p. 156–65, apr 2010.
- ENGEL, A. K.; FRIES, P.; SINGER, W. Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top–down processing. *Nature Reviews Neuroscience*, Nature Publishing Group, v. 2, n. 10, p. 704, 2001.
- FELL, J.; AXMACHER, N. The role of phase synchronization in memory processes. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 12, n. 2, p. 105–118, feb 2011.
- FOSTER, J. J. et al. Alpha-band oscillations enable spatially and temporally resolved tracking of covert spatial attention. *Psychological Science*, SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA, v. 28, n. 7, p. 929–941, jul 2017.
- FRIES, P. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in cognitive sciences*, v. 9, n. 10, p. 474–80, oct 2005.
- FRIES, P. Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annual review of neuroscience*, v. 32, p. 209–24, jan 2009.
- FRIES, P. et al. Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. *Science (New York, N.Y.)*, v. 291, n. 5508, p. 1560–3, feb 2001.
- GOMEZ-MARIN, A. et al. Big behavioral data: psychology, ethology and the foundations of neuroscience. *Nature Neuroscience*, v. 17, n. 11, p. 1455–1462, nov 2014. ISSN 1097-6256.
- GOMEZ, P.; RATCLIFF, R.; PEREA, M. A model of the go/no-go task. *Journal of experimental psychology. General*, NIH Public Access, v. 136, n. 3, p. 389–413, aug 2007.

- GOTTSDANKER, R. Age and simple reaction time. *Journal of Gerontology*, Oxford University Press, v. 37, n. 3, p. 342–348, may 1982.
- GOUZOULIS-MAYFRANK, E. et al. Impaired cognitive performance in drug free users of recreational ecstasy (mdma). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2000.
- GRANGER, C. W. J. Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrica*, The Econometric Society, v. 37, n. 3, p. 424, aug 1969.
- GRAY, P. O. B. *PSYCHOLOGY : 8th edition*. 8th. ed. [S.l.]: Macmillan Learning, 2018.
- HANAKAWA, T.; DIMYAN, M. A.; HALLETT, M. Motor planning, imagery, and execution in the distributed motor network: a time-course study with functional mri. *Cerebral cortex*, Oxford University Press, v. 18, n. 12, p. 2775–2788, 2008.
- HIJAZI, M. M. K. Attention, visual perception and their relationship to sport performance in fencing. *Journal of Human Kinetics*, De Gruyter Open, v. 39, p. 195–201, dec 2013.
- HIRATA, Y.; AIHARA, K. Representing spike trains using constant sampling intervals. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 183, n. 2, p. 277–286, oct 2009.
- HUERTA, P. T.; LISMAN, J. E. Bidirectional synaptic plasticity induced by a single burst volume = 15, year = 1995. *Neuron*, n. 5, p. 1053–63, nov.
- HULTSCH, D. F.; MACDONALD, S. W. S.; DIXON, R. A. Variability in reaction time performance of younger and older adults. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, Oxford University Press, v. 57, n. 2, p. P101–P115, mar 2002.
- JENSEN, O.; MAZAHERI, A. Shaping functional architecture by oscillatory alpha activity: gating by inhibition. *Frontiers in human neuroscience*, Frontiers, v. 4, p. 186, 2010.
- JIA, X.; KOHN, A. Gamma Rhythms in the Brain. *PLoS Biology*, Public Library of Science, v. 9, n. 4, p. e1001045, apr 2011.
- JOHNSON, R. C. et al. Galton's data a century later. *American Psychologist*, v. 40, n. 8, p. 875–892, 1985. ISSN 1935-990X. Disponível em: <<http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/0003-066X.40.8.875>>.
- JOHNSTON, J. M. et al. *Strategies and Tactics of Behavioral Research, Third Edition*. [S.l.]: Routledge, 2008.
- KAMONDI, A. et al. Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo: Activity-dependent phase-precession of action potentials. *Hippocampus*, Wiley Online Library, v. 8, n. 3, p. 244–261, 1998.
- KANDEL, E. et al. *Princípios de Neurociências - 5.ed.* [S.l.]: AMGH Editora, 2014. 1531 p.
- LAKATOS, P. et al. The leading sense: supramodal control of neurophysiological context by attention. *Neuron*, NIH Public Access, v. 64, n. 3, p. 419–30, nov 2009.

- LEJEUNE, H.; RICHELLE, M.; WEARDEN, J. H. About skinner and time: behavior-analytic contributions to research on animal timing. *Journal of the experimental analysis of behavior*, Society for the Experimental Analysis of Behavior, v. 85, n. 1, p. 125–42, jan 2006.
- LI, C.-s. R. et al. Imaging response inhibition in a stop-signal task: neural correlates independent of signal monitoring and post-response processing. *Journal of Neuroscience*, Soc Neuroscience, v. 26, n. 1, p. 186–192, 2006.
- LUO, J. et al. Modulating the activity of the dorsolateral prefrontal cortex by tdcS alters distributive decisions behind the veil of ignorance via risk preference. *Behavioural Brain Research*, Elsevier, v. 328, p. 70–80, jun 2017.
- MAHMOOD, O. et al. Adolescents' fmri activation to a response inhibition task predicts future substance use. *Addictive Behaviors*, v. 38, n. 1, p. 1435–1441, jan 2013.
- MALIK, A. S.; AMIN, H. U. *Designing an EEG Experiment*. [S.l.]: Elsevier, 2017. 1–30 p.
- MATIAS, F. S. et al. Anticipated synchronization in a biologically plausible model of neuronal motifs. *Physical Review E*, v. 84, n. 2, p. 021922, aug 2011. ISSN 1539-3755.
- MATIAS, F. S. et al. Anticipated synchronization in neuronal motifs. *BMC Neuroscience*, BioMed Central Ltd, v. 14, n. Suppl 1, p. P275, 2013.
- MATIAS, F. S. et al. Modeling positive granger causality and negative phase lag between cortical areas. *NeuroImage*, Elsevier Inc., v. 99, p. 411–8, oct 2014.
- MCNAUGHTON, B. L.; KNIERIM, J. J.; WILSON, M. A. *THE COGNITIVE NEUROSCIENCES*. [S.l.]: MIT Press, 2004. 1385 p.
- MITCHELL, D. G. The nexus between decision making and emotion regulation: A review of convergent neurocognitive substrates. *Behavioural Brain Research*, v. 217, n. 1, p. 215–231, feb 2011.
- MURRAY, E. A.; RUDEBECK, P. H. Specializations for reward-guided decision-making in the primate ventral prefrontal cortex. *Nature Reviews Neuroscience 2018 19:7*, Nature Publishing Group, v. 19, n. 7, p. 404, may 2018. ISSN 1471-0048.
- NARAYANAN, N. S.; LAUBACH, M. Top-down control of motor cortex ensembles by dorsomedial prefrontal cortex. *Neuron*, Elsevier, v. 52, n. 5, p. 921–931, 2006.
- NARAYANAN, N. S.; LAUBACH, M. Delay activity in rodent frontal cortex during a simple reaction time task. *Journal of neurophysiology*, American Physiological Society, v. 101, n. 6, p. 2859–71, jun 2009.
- NETO, A. J. F. *Implementação de um protocolo experimental para estudo de propriedades de resposta visual de neurônios do córtex visual primário (V1) em ratos utilizando matrizes de eletrodos*. 91 p. Tese (Dissertação em Física) — Universidade Federal de Pernambuco, 2015.
- NICOLELIS, M. A. *Methods for Neural Ensemble Recordings*. [S.l.]: CRC Press/Taylor & Francis, 2008.

- NIKI, H.; WATANABE, M. Prefrontal and cingulate unit activity during timing behavior in the monkey. *Brain research*, v. 171, n. 2, p. 213–24, aug 1979.
- NOCE, F. et al. Influência do tempo de reação o simples na seleção de jovens talentos no tênis. *Revista da Educacao Fisica*, v. 23, p. 369–377, 2013.
- PALVA, S.; PALVA, J. M. New vistas for  $\alpha$ -frequency band oscillations. *Trends in neurosciences*, Elsevier, v. 30, n. 4, p. 150–158, 2007.
- PESARAN, B. et al. Temporal structure in neuronal activity during working memory in macaque parietal cortex. *Nature Neuroscience*, v. 5, n. 8, p. 805–811, aug 2002.
- PIKOVSKY, A.; ROSENBLUM, M.; KURTHS, J. J. *Synchronization : a universal concept in nonlinear sciences*. [S.l.]: Cambridge University Press, 2001. 411 p.
- QUIROGA, R. Q.; NADASDY, Z.; BEN-SHAUL, Y. Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural computation*, MIT Press, v. 16, n. 8, p. 1661–1687, 2004.
- RANDALL, W. M.; SMITH, J. L. Conflict and inhibition in the cued-go/nogo task. *Clinical Neurophysiology*, v. 122, n. 12, p. 2400–2407, dec 2011.
- RENTROP, M. et al. Response inhibition in borderline personality disorder: performance in a go/nogo task. *Psychopathology*, Karger Publishers, v. 41, n. 1, p. 50–7, 2008.
- RICHTER, C. G. et al. Top-down beta enhances bottom-up gamma. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, Society for Neuroscience, v. 37, n. 28, p. 6698–6711, jul 2017.
- RIDDERINKHOF, K. R. et al. The role of the medial frontal cortex in cognitive control. *Science*, v. 306, n. 5695, p. 443–447, oct 2004.
- RIDDLE, C. N.; BAKER, S. N. Digit displacement, not object compliance, underlies task dependent modulations in human corticomuscular coherence. *Neuroimage*, Elsevier, v. 33, n. 2, p. 618–627, 2006.
- ROSSATO, L. C.; CONTREIRA, A. R.; CORAZZA, S. T. Análise do tempo de reação e do estado cognitivo em idosos praticantes de atividades físicas. *Fisioterapia e Pesquisa*, v. 18, p. 54–59, 2011.
- ROSSGER, N. C. *Construção e avaliação de equipamento de baixo custo para análise experimental do comportamento de sujeitos não-humanos*. 103 p. Tese (Doutorado em Psicologia Experimental) — Universidade de São Paulo, 2015.
- RUCHSOW, M. et al. Impulsiveness and erp components in a go/nogo task. *Journal of Neural Transmission*, Springer Vienna, v. 115, n. 6, p. 909–915, jun 2008.
- RUSHWORTH, M. et al. Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends in cognitive sciences*, Elsevier, v. 8, n. 9, p. 410–417, 2004.
- RUSSO, F. D. et al. Neural correlates of fast stimulus discrimination and response selection in top-level fencers. *Neuroscience Letters*, v. 408, n. 2, p. 113–118, nov 2006.
- SALAZAR, R. F. et al. Content-specific fronto-parietal synchronization during visual working memory. *Science*, v. 338, n. 6110, p. 1097–1100, nov 2012.

- SCHACTER, D. L.; GILBERT, D. T.; WEGNER, D. M. *Psychology*. 2nd. ed. New York: Worth, 2011.
- SCHOENBAUM, G.; ROESCH, M. R.; STALNAKER, T. A. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends in Neurosciences*, Elsevier Current Trends, v. 29, n. 2, p. 116–124, feb 2006.
- SETH, A. K.; BARRETT, A. B.; BARNETT, L. Granger causality analysis in neuroscience and neuroimaging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, Society for Neuroscience, v. 35, n. 8, p. 3293–7, feb 2015.
- SIMMONDS, D. J.; PEKAR, J. J.; MOSTOFSKY, S. H. Meta-analysis of go/no-go tasks demonstrating that fmri activation associated with response inhibition is task-dependent. *Neuropsychologia*, NIH Public Access, v. 46, n. 1, p. 224–32, jan 2008.
- SKINNER, B. The generic nature of the concepts of stimulus and response. *The Journal of General Psychology*, Taylor & Francis, v. 12, n. 1, p. 40–65, 1935.
- SMIDT, G. R. et al. Análise do tempo de reação a partir do desempenho motor de adolescentes praticantes do nado crawl. *Motricidade*, Revista Motricidade Edições Desafio Singular, v. 11, n. 3, p. 11–19, 2015.
- STAHL, C. et al. Behavioral components of impulsivity. *Journal of Experimental Psychology: General*, v. 143, n. 2, p. 850–886, 2014.
- STROGATZ, S. H. S. H. *Nonlinear dynamics and chaos : with applications to physics, biology, chemistry, and engineering*. [S.l.]: Westview Press, 2000. 498 p.
- STUPHORN, V.; SCHALL, J. D. Executive control of countermanding saccades by the supplementary eye field. *Nature neuroscience*, Nature Publishing Group, v. 9, n. 7, p. 925, 2006.
- STURDY, C. B.; NICOLADIS, E. How much of language acquisition does operant conditioning explain? *Frontiers in Psychology*, Frontiers Media SA, v. 8, n. OCT, p. 1918, 2017.
- THORNDIKE, E. L. Animal intelligence: An experimental study of the associative processes in animals. *The Psychological Review: Monograph Supplements*, The Macmillan Company, v. 2, n. 4, p. i, 1898.
- TUDOR, M.; TUDOR, L.; TUDOR, K. I. [hans berger (1873-1941)–the history of electroencephalography]. *Acta medica Croatica : casopis Hravatske akademije medicinskih znanosti*, v. 59, n. 4, p. 307–13, 2005.
- UHLHAAS, P. J.; SINGER, W. Neural synchrony in brain disorders: Relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron*, Cell Press, v. 52, n. 1, p. 155–168, oct 2006.
- VACHON, L.; KITSIKIS, A.; ROBERGE, A. G. Chlordiazepoxide, go-nogo successive discrimination and brain biogenic amines in cats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, Elsevier, v. 20, n. 1, p. 9–22, jan 1984.
- VARELA, F. et al. The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, n. 4, p. 229–239, apr 2001.

- VERBRUGGEN, F.; LOGAN, G. D. Response inhibition in the stop-signal paradigm. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 12, n. 11, p. 418–424, nov 2008.
- VOGT, T. et al. Exercise, mood and cognitive performance in intellectual disability—a neurophysiological approach. *Behavioural Brain Research*, v. 226, n. 2, p. 473–480, jan 2012.
- VOSS, H. U. Anticipating chaotic synchronization. *Physical review E*, APS, v. 61, n. 5, p. 5115, 2000.
- WAGER, T. D. et al. Common and unique components of response inhibition revealed by fmri. *Neuroimage*, Elsevier, v. 27, n. 2, p. 323–340, 2005.
- WANG, X.-J. Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiological reviews*, NIH Public Access, v. 90, n. 3, p. 1195–268, jul 2010.
- WOODS, D. L. et al. Factors influencing the latency of simple reaction time. *Frontiers in human neuroscience*, Frontiers Media SA, v. 9, p. 131, 2015.
- ZHANG, L. et al. Hippocampal theta-driving cells revealed by granger causality. *Hippocampus*, John Wiley & Sons, Ltd, v. 22, n. 8, p. 1781–1793, aug 2012.

## **5 DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR**

Patente submetida ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (**BR 102017014852-1 A2**)



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102017014852-1 A2



(22) Data do Depósito: 10/07/2017

(43) Data da Publicação Nacional: 22/01/2019

(54) **Título:** DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR

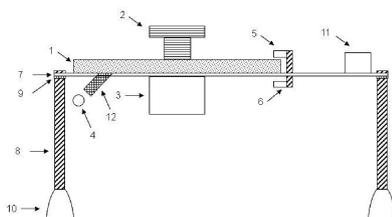
(51) **Int. Cl.:** A01K 5/02.

(52) **CPC:** A01K 5/0275.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** LEANDRO ALVARO DE ALCANTARA AGUIAR; MARCOS AURÉLIO DO NASCIMENTO; PEDRO VALADÃO CARELLI; ROMILDO DE ALBUQUERQUE NOGUEIRA.

(57) **Resumo:** A presente patente de produto refere-se a um dispositivo de distribuição de peletes controlado eletronicamente por um microcontrolador que compreende um disco de liberação de peletes conectado a um motor sobre uma base fixa; o sensor de luz infravermelha é capaz de identificar o movimento giratório do disco e enviar para o microcontrolador um comando para parar de deslocar o disco assim que o pelete alimentar for liberado pela cânula. Este equipamento pode ser aplicado em pesquisas científicas ou no desenvolvimento de medicamentos que necessitem de mecanismos de recompensa para testes comportamentais.



“DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA  
DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”

RELATÓRIO DESCRITIVO

Campo da Invenção

[001] A presente invenção refere-se a um dispensador de peletes alimentares com alimentação manual e dispersão automática controlada por sensores e um microcontrolador, normalmente utilizadas em caixas de comportamento animal. Este equipamento pode ser aplicado em pesquisas científicas ou no desenvolvimento de medicamentos que necessitem de mecanismos de recompensa para testes comportamentais.

Antecedentes da Invenção

[002] Atualmente, a neurociência e a psicologia têm conduzido estudos comportamentais em animais, realizando registros e interpretando as respostas animais diante a determinados estímulos, para tal utilizam caixas de comportamento animal.

[003] Em modelos de estudo do comportamento animal um dos principais métodos é o condicionamento operante. Neste método é possível modelar determinadas respostas através de modificações da probabilidade de um determinado comportamento, inicialmente, através de reforços decorrente a determinadas respostas desejadas.

[004] Durante o processo de condicionamento operante o animal, normalmente um rato ou um camundongo, ficam confinados em um compartimento contendo estímulos luminosos e ou sonoros, por exemplo. Para modelar o comportamento desejado é necessário que durante a realização de um determinado teste o animal receba uma recompensa, quando acerta o mesmo.

[005] Para recompensar os animais individualmente de forma manual é demorado e antieconômico, além do mais existiria a possibilidade de ser liberada mais de uma recompensa ou mesmo nenhuma, em sistemas que dependeriam do manuseio humano. Normalmente as caixas comportamentais possuem mecanismos de recompensa automáticos que estão conectados a este compartimento através de sensores, normalmente uma alavanca, de forma a fornecer peletes alimentares, como recompensas, de acordo com a programação desejada. Contudo mesmo sendo mecanismos automáticos são suscetíveis a falhas.

[006] A liberação dos peletes alimentares deve ser feita imediatamente após o estímulo, não devendo ocorrer atrasos no processo de liberação da recompensa. Ambas invenções US 7.896.195 B2 e US 8.950.625 B2 descrevem a produção de dispensadores de peletes utilizados principalmente na indústria farmacêutica, contudo não descrevem mecanismos para liberarem peletes de acordo com a programação do pesquisador. Logo é necessário que se tenha uma interface que interpretem os estímulos e as respostas comportamentais do animal, processem os dados e controle a liberação de peletes alimentares, normalmente feitas por complexos programas operados por sistemas computacionais, que nem sempre são intuitivos (Berkhoudt, et al. J Exp Anal Behav, 48, 1987), ou requer que o pesquisador/operador aprenda uma linguagem específica de programação para determinado equipamento.

[007] Os *softwares* juntamente com os dispensadores de peletes alimentares, existentes no mercado, possuem valores de comércio bastante elevado, o que dificulta a aquisição deste tipo de produto por jovens pesquisadores e pequenas instituições de pesquisa de países em desenvolvimento, para montarem laboratório de ensino e pesquisa para estudos de comportamento animal (Pineno. Behav Res Methods, 46, 2014).

[008] Além do mais, a conexão entre o equipamento e o *software*, em sua grande maioria, é feita de forma que somente o próprio fabricante do equipamento é capaz de compreender completamente o processo de controle para atender a determinados tipos de testes, sendo necessário encomendar o desenvolvimento de determinados tipos de testes comportamentais e ficar restrito aos dispositivos de

*hardware* que, normalmente, somente são fornecidos por determinados fabricantes, ficando a mercê da disponibilidade do mercado.

[009] Assim, a presente invenção é capaz de liberar peletes alimentares utilizando materiais de baixo custo, que em sua grande parte podem ser adquiridos de sucatas de equipamentos inutilizados, como fotocopiadoras e aparelhos de ar condicionado, e que são facilmente encontrados em lojas de equipamentos eletrônicos. Além do mais, este método, possui a vantagem de economizar tempo e trabalho, uma vez que o *software* de controle do microcontrolador, configurado com um chip semicondutor para controlar um circuito elétrico, é aberto e intuitivo, podendo ser programado conforme a necessidade do experimentador. Obtendo-se relatórios dos de todo o processo de funcionamento do dispositivo durante a sua utilização.

[010] Apesar da construção de microcontroladores necessitarem de uma gama de conhecimentos de engenharia elétrica, estes podem ser adquiridos a valores extremamente baixos. Sua programação é tão intuitiva que constantemente são utilizados por jovens em escolas secundárias para aulas de robótica, eletrônica e física, por exemplo.

[011] Além do mais a presente invenção torna-se útil em testes farmacológicos uma vez que é necessário que sejam feitos estudos que avaliem o desempenho cognitivo e motor dos animais submetidos a estes novos fármacos. Principalmente nas últimas décadas com as tecnologias que permitem facilitar as técnicas de biologia molecular, de análise dos sinais fisiológicos, modelagem de redes neurais, que por sua vez remodelaram dramaticamente a forma de compreensão de vários transtornos neuropsiquiátricos.

### Descrição da Invenção

[012] A seguir a presente invenção será descrita com referência aos desenhos anexos, nos quais:

[013] A Figura 1 representa uma vista lateral do dispensador de peletes alimentares constituído por: disco de liberação de peletes (1); adaptador do motor (2); motor de passo (3); pelete alimentar (4); emissor de luz infravermelha (5); receptor de luz infravermelha (6); base de sustentação (7); hastes rosqueada de sustentação (8); porca (9); bases de haste (10); conectores para alimentação do circuito (11); cânula de liberação (12).

[014] A Figura 2 representa uma vista superior do dispensador de peletes alimentares constituído por: disco de liberação de peletes (1); perfuração central (13); furo maior (14); furo menor (15); base de sustentação (7); conectores para alimentação do circuito (11); conectores para o microcontrolador (16); conectores para barras da caixa de comportamento (17); furo para hastes rosqueadas de sustentação (18).

[015] A presente invenção descreve um novo modelo de dispensador de peletes alimentares, possuindo um disco de liberação de peletes (1) feito de material opaco, preferencialmente acrílico, com uma perfuração central (13). Esta perfuração central (13) é necessária para fixar o adaptador (2) que conectará o disco de liberação de peletes (1) ao motor de passo (3), promovendo maior estabilidade. Além da perfuração central (13), o disco de liberação de peletes (1) deverá ter dois furos alinhados, um furo maior (14) seguido por um furo menor (15), preferencialmente a cada dez graus. Os furos maiores deverão ter, preferencialmente, 0,50 mm de raio de forma a ser capaz de acomodar o pelete alimentar (4). Já os furos menores (15) deverão ter, preferencialmente, 0,05 mm de raio, de forma a permitir que o receptor de luz infravermelha (5) receba a informação que a disco de liberação de peletes (1) girou, quando a luz infravermelha, gerada pelo emissor (9), atravessar o furo menor (6), permitindo maior controle da quantidade de peletes liberados.

[016] O disco de liberação de peletes (1) ficará sobre uma base (7), preferencialmente no formato retangular. Cada extremidade deverá ter um furo (18) para serem acoplados as hastes rosqueada de sustentação (8), onde, preferencialmente, uma porca (9) será utilizada para fixar as hastes rosqueada de sustentação (8) à base de sustentação (7). Estas hastes deverão ter bases de haste (10) para ajustar a altura desejada. Na base de sustentação (7) deverá estar montado o circuito eletrônico da fonte de alimentação, driver do motor de passo, conectores para alimentação do circuito (11), conectores para o microcontrolador (16), conectores para botão da caixa de comportamento (17).

[017] Assim, no momento que o animal acionar o botão da caixa de comportamento é enviado um sinal digital, preferencialmente de 5 V, para o microcontrolador. Ao chegar no microcontrolador, o mesmo analisa o tempo em que o botão permaneceu pressionado, e dependendo da programação, o microcontrolador enviará o comando para o motor de passo (3) que por sua vez movimentará o adaptador (2) que estará conectado ao disco de liberação de peletes (1), girando o mesmo.

[018] Ao girar o disco (1), será liberado um pelete (4), pela cânula de liberação (12), que está conectada a base de sustentação (7). Nesta base possui um furo de modo a permitir a passagem de um único pelete (4) quando movimentado pelo motor de passo (3). A base também possui um pequeno furo, de forma que o disco (1) deverá ter o furo menor (15) posicionado sob o receptor de luz infravermelha (6) e sobre o emissor (5), assim quando o disco (1) for movimentado o emissor (4) perceberá a emissão da luz infravermelha (5), assim será enviado um sinal digital para o microcontrolador, servindo como sinal para iniciar o protocolo de parar de movimentar o motor (4).

[019] O controle do dispensador é feito de um ambiente de desenvolvimento integrado (IDE), que reúne pré-programações que se adaptam de acordo com as diferentes necessidades experimentais, sendo utilizada a linguagem em programação em C para interpretar os sinais enviados pelos sensores de infravermelho e pelo botão e luzes da caixa de condicionamento, que utilizará o dispensador de peletes alimentos,

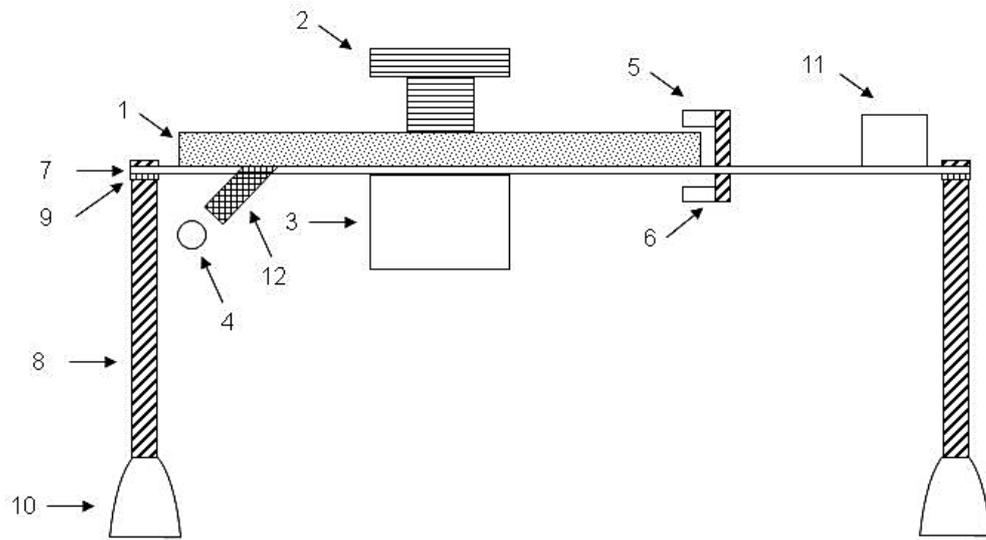
por exemplo. Na programação é permitido alterar os estímulos e tempo de resposta, a quantidade de peletes liberados. Tudo isso é feito de forma a carregar o programa para o microcontrolador através de poucos cliques, permitindo que o pesquisador tenha liberdade em configurar o dispensador de peletes alimentares para distintas condições experimentais.

## REIVINDICAÇÕES

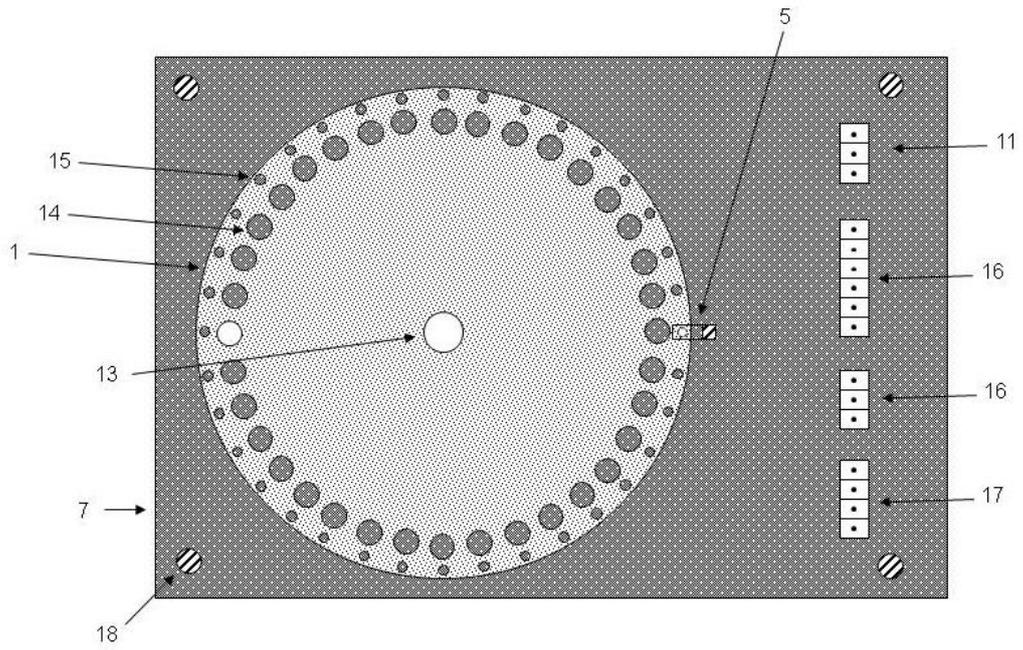
1. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, **caracterizado por** um dispositivo capaz de liberar peletes alimentares controlado por microcontrolador capaz de ser programado para diferentes condições experimentais.
2. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** disco (1) ser de material opaco de forma que só se tenha a passagem de luz através dos furos menores (15) e maiores (14), de um lado para o outro.
3. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato do adaptador (2) conectar o disco (1) ao motor (3), o que torna possível a movimento giratório ao disco (1), de acordo com as respostas recebidas pelo microcontrolador.
4. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato da disco (1) realizar movimento giratório sobre a base (7), de forma a liberar somente um pelete (4), para cada movimento controlado pelo microcontrolador e sensores de infravermelho (6).
5. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato da base quadrilátera (7) possuir dois furos de mesmas dimensões dos furos menores (15) e maiores (14), permitindo a passagem de peletes para a cânula (12) e passagem de luz infravermelho, respectivamente.
6. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1,

**caracterizado pelo** fato de possuir hastes rosqueada de sustentação (8) conectadas a bases da haste (10).

7. “DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato do microcontrolador interpretar os dados recebidos pelos sensores e controlar o movimento do disco, através de uma linguagem de programação em C.



**Figura 1**



**Figura 2**

RESUMO

“DISPENSADOR DE PELETES ALIMENTARES IMPLEMENTADO EM PLATAFORMA DE HARDWARE DE MICROCONTROLADOR”. A presente patente de produto refere-se a um dispositivo de distribuição de peletes controlado eletronicamente por um microcontrolador que compreende um disco de liberação de peletes conectado a um motor sobre uma base fixa; o sensor de luz infravermelha é capaz de identificar o movimento giratório do disco e enviar para o microcontrolador um comando para parar de deslocar o disco assim que o pelete alimentar for liberado pela cânula. Este equipamento pode ser aplicado em pesquisas científicas ou no desenvolvimento de medicamentos que necessitem de mecanismos de recompensa para testes comportamentais.

## **6 OPEN HARDWARE LOW COST SYSTEM FOR BEHAVIORAL EXPERIMENTS SIMULTANEOUSLY WITH ELECTROPHYSIOLOGICAL RECORDINGS**

Artigo será submetido para publicação no Periódico *Behavior Research Methods*

# Open hardware low cost system for behavioral experiments simultaneously with electrophysiological recordings.

Leandro A A Aguiar · Nivaldo A P de Vasconcelos · Antonio Fontenele ·  
Marcelo Reyes · Romildo de Albuquerque Nogueira · Pedro V. Carelli

Received: date / Accepted: date

**Abstract** A major issue in neuroscience is to find neural correlates of perception, learning, decision making and behavior. In the last decades, modern devices are provided to record simultaneously not only the different behaviors but also the electrical activity of large neuronal populations. However, the behavioral system has an expensive acquisition cost and the design of low-cost operate condition chamber has emerged as an interesting alternative to resource-limited laboratories of animal behavior. In this article, we provide a full de-

scription of an experimental platform for simultaneously recording of the behavior and the electrical activity of a populations neurons.

We show examples of behavioral experiments with freely moving rats with simultaneous electrophysiological recordings.

**Keywords** open hardware · operant conditioning · reaction time · spikes field potential

---

Leandro A A Aguiar  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, Brazil

Nivaldo A P de Vasconcelos  
Department of Biomedical Engineering, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.  
Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), School of Medicine, University of Minho, Braga, 4710-057, Portugal.  
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal.

Antonio Fontenele  
Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brazil

Marcelo Reyes  
Centro de Matemática Computação e Cognição, Universidade Federal do ABC, São Paulo, Brazil

Romildo de Albuquerque Nogueira  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, Brazil

Pedro V. Carelli  
Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brazil  
E-mail: pedro.carelli@ufpe.br

## 1 Introduction

One of the major foundations of neuroscience is the understanding of the bases involved during behavioral processes [1]. One way to investigate the behaviour neural basis is through the recordings of neuronal unit activity or local field potential (LFP) during behavioral task [2]. For this purpose, a mechanism of synchronization (hand shaking) between the electrophysiological recording equipment and the behavioral recording system is required.

The recent technological advances in multi-electrode array manufacturing enabled us to record the extracellular activity of neurons in different brain regions [3]. With the use of multi-electrode arrays it is possible to obtain the underlying neuronal population activity of a behavioral task [4].

One of the main challenges for the performance of electrophysiological recordings in behavior studies is the noise and artifacts that occur due to the movement of the animal, chewing and contact with the behavioral device [2].

Operant conditioning chamber (OCC) is a device widely used to perform behavioral tasks. Through operant conditioning it is possible to modify the probability of a response by using reinforcements [5]. For example,

it is possible to condition a rat by pressing a lever reinforcing with sugar every time the lever was pressing. So, the animal tends to repeat the hits trials and learning the activity [6].

OCC commercial systems may be expensive. This can be a problem to resource-limited researcher [7], which effectively creates financial barriers to the scientific development as whole. Thus, the design of low cost OCC has emerged as an interesting alternative to resource-limited laboratories. Some research groups have developed low cost OCC [7, 8], however none have shown an efficient system that can send information to the electrophysiology record system regarding the events within the OCC.

Arduino is an open source platform used to build and program electronics. It is an ideal platform for laboratories because it is able to monitor and analyze inputs and outputs signal, through the digital and analog ports. The Arduino is thus able to send and receive information through Transistor-Transistor Logic (TTL) signals with a time resolution of milliseconds. Furthermore, It has a serial communication port for communication with the computer via USB [7]. This temporal resolution allows the Arduino can be used to synchronize the behavioral actions with the electrophysiology data [9]. One of the first low-cost behavioral system used the Arduino as the main controller of the system [8].

In this paper, we developed a low-cost OCC, able to perform different behavioral tests, and simultaneously send to be recorded by the electrophysiological recording system. Thus both data behavioral and electrophysiological are stored together, without electric noise generation when the reward mechanism is triggered.

## 2 Material and methods

### 2.1 Device overview

We have assembled an operant conditioning chamber ( $25 \times 25 \times 30$  cm) (Fig. 1a, top). It includes a food dispenser disk, an Arduino Uno microcontroller, auxiliary electronic circuit, stepper motor and a device for optical communication with the acquisition system (Ephys) (Fig. 1a, bottom). It was developed with low cost materials that can be easily purchased from an electronics store. The microcontroller is programmed to autonomously control the full behavioral experiment, including monitoring the behavior box lever, generating the stimuli and analyzing the animal response and delivering the reward. For every event occurring in the box the microcontroller generates a pulse to the acquisition system (Fig. 1a (bottom)).

### 2.2 Hardware

#### 2.2.1 Food pellet dispenser disk

A food pellet dispenser was developed to release sucrose pellets (50 mg). These food pellets were used as rewards in behavioral tasks. The dispenser disk was cut from a 4 mm polymethyl methacrylate plate and is coupled to the stepper motor. The disk has a set of two holes aligned, a larger hole (0.50 mm in diameter) that serves to accommodate the sucrose pellets and a smaller hole that is aligned with an infrared light sensor to check the disk position, avoiding cumulative calibration errors of the pitch motor positioning. The technical description is available in [10].

#### 2.2.2 Controller

We set up an auxiliary electronic circuit to power the Arduino, generate the visual stimuli, read the lever and IR sensor, switch the stepper motor coils.

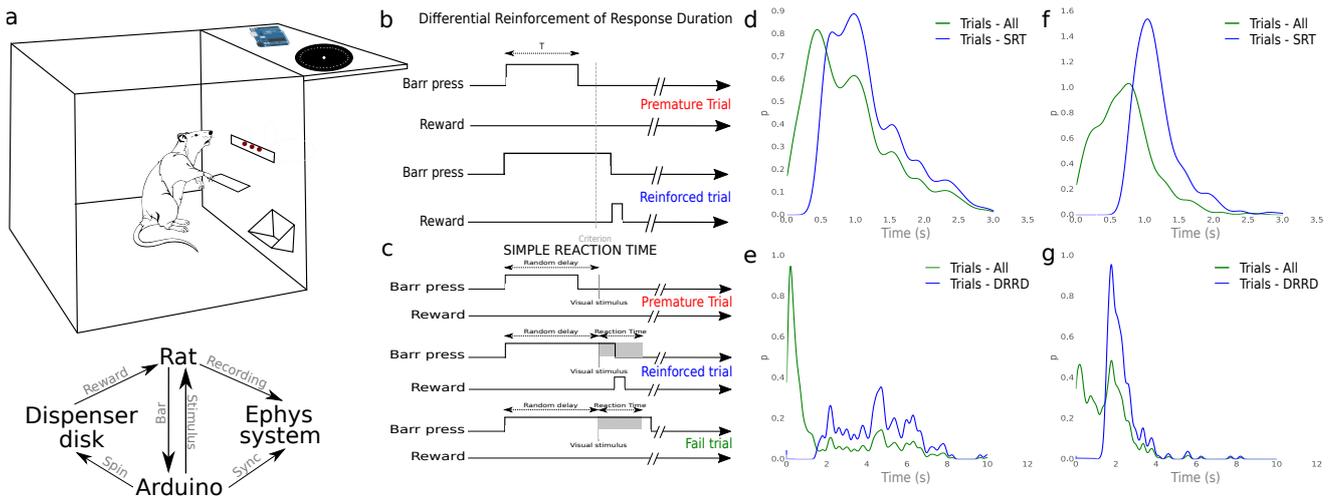
The circuit runs two power lines: 12 V and 5 V. The 12 V line was used to power the Arduino and stepper motor. The motor used was a compact high torque (24BYJ48) which has four coils set. Each motor coil was connected to a transistor (BD-137) that switches the voltage to 12 V, so when the Arduino sends a TTL signal, to the circuit, the transistor circuit is closed and allows the coil to be fed. Consequently when the Arduino sends a sequence of TTL signal has the rotation of the disk.

The 5 V line was created through a voltage regulator 7805. The 5 V line powered the lever, which came from the OCC, the visual stimuli, which were activated through TTL of the Arduino, and the IR sensor.

Each time the lever was pressed a TTL signal was sent to the Arduino's digital port. The Arduino counts and records the time the lever was kept pressed. When the experimental protocol includes presenting a visual stimuli, it is controlled by a digital port. The rotation of the stepper motor is commanded by the digital ports 2, 3, 4 and 5. The rotation goes on until the release of one sugar pellet through a cannula to the food dispenser. An IR light sensor identifies the correct time to stop the disk rotation. This occurs when the IR sensor identifies the presence of IR light through a smaller hole. The IR sensor (Tsop1838) sends a TTL signal to port 11 of the Arduino.

#### 2.2.3 Optical communication

The recording of the behavioral activity, can be done either through the serial port of a computer connected



**Fig. 1 Behavioral box.** (a) **top** - Operant conditioning box containing the LED (visual stimulus), lever, pellet delivery, electronic components: Arduino Uno R3, pellet release disk. **bottom** - Basic operation of the operant conditioning system: Arduino controls all component. It monitors the status of the lever and control the exposure of the visual stimulus (power on three LEDs in the box). If the animal hit the trial, the Arduino will send a pulse sequences to spin the dispenser disk and release a food pellet (reward). All the actions of the box (i.e., state of the lever, stimulus presentation, dispenser disk rotation) are sent to the electrophysiology (Ephys) system through the TTL signal of the Arduino. (b) Description of the DRRD task, where:  $T$  is the time the animal pressed lever. The vertical line (gray) corresponds to the criterion (Our criterion was 1500 ms). The criterion is a minimum time that the rat must keep the bar pressed to receive a reinforcement (Reinforced trial). If the rat release the bar before the criterion, the trial will not be rewarded (Premature trial). (c) Description of the SRT task. In this task the rats were trained to perform a simple reaction time task. They should release the bar during the reaction time (gray band) to receive a reinforcement (Reinforced trial). The reaction time correspond to 300 ms after the stimulus exposure. If the rat release the bar before the visual stimulus, the trial will not be rewarded (Premature trial). The trial too will not be rewarded when the rat release the bar after the reaction time (Fail trial). The visual stimulus were exposure when the rat press the bar for 500 ms plus one random delay. The random delay is a time between 0 and 200 ms, uniformly distributed. (d) Probability by time of press (sec) for all trials (green line) and SRT trials (blue line) for first training session. (e) Probability by time of press (sec) for all trials (green line) and SRT trials (blue line) for last training session. (f) Probability by time of press (sec) for all trials (green line) and DRRD trials (blue line) for first training session. (g) Probability by time of press (sec) for all trials (green line) and DRRD trials (blue line) for last training session.

to the arduino, or through the TTL signals generated by the Arduino for the aquisition system.

The recording made by the serial port is usefull when doing behavioral experiments without electrophysiology. A code for each behavioral event has been set combining the time stamp plus the event code. For example, if the rat pressed the lever (code 001) during 800 ms after the session beginning, the serial port of the Arduino sends the following string "800.001".

When the electrophysiology data was recorded the serial port was not used for recording behavioral activity. This aims to reduce unnecessary sources of electrical noise. Our implementation made use an optical fiber to send the synchronization pulses from the arduino to the Ephys. The TTL signal from the Arduino was converted to a red light pulse by a fiber optic module (RFT-4112SS). The fiber optic module is assembled with AlGaInP LED. It Transforms the electrical signal (TTL) to optical signal and be transmitted by plastic optical fiber. In a second step, the light pulse is converted again to a TTL pulse to be acquired by the aquisition system. The Ephys has 8 ADCs in its front

panel that acquire the synchronization pulses in parallel with the electrode signals from the multielectrode arrays.



**Fig. 2 Optical communication scheme.**

### 2.3 Software and Behavioral Protocols

The Arduino has an integrated development environment (IDE). The software was written in a C language and loaded directly into the Arduino board. Here we exemplify with three behavioral protocols we implemented and tested.

### 2.3.1 FR1

Before initiating the experimental protocols of DRRD and SRT the rat performed FR1 sessions. In these sessions the animal learned to associate the lever with the release of sugar pellet (positive reinforcement). During the session the stimulus was the same for the entire duration (60 minutes).

The trial began when the animal pressed the lever and at the instant that the rat releases it and receives a reward, in this case a sucrose feed pellet. The animals were considered trained when they had a number of 100 responses throughout a session. The FR1 improves learning other tests faster, but ends up increasing the frequency of early activity during the other tests.

In this software's task the Arduino was monitoring a digital port configured to receive information from the lever, storing and generating TTL signal, according to the state of the lever. It also had a function responsible for controlling the rotation of the disk.

### 2.3.2 DRRD

The DRRD task requires that a behavioral response be sustained by a minimum time interval for the rat to receive the reward [11]. The trial was initiated when the animal pressed the lever. The animals should keep the lever depressed for more than 1500 ms to receive the reward. Trials in which the animal releases the lever before this minimal time were considered invalid.

In this software's task the Arduino monitored the time interval of time that the rat kept the lever pressed. If he kept the bar pressed for a longer time than the criteria the Arduino released the reward.

### 2.3.3 SRT

The SRT task a behavioral response must be maintained for a period of time after the stimulus presentation [12]. The protocol used in this study was modified from **Narayanan** [13].

They should release the bar during the reaction time (gray band) to receive a reinforcement (Reinforced trial). The reaction time correspond to 300 ms after the stimulus exposure. If the rat release the bar before the visual stimulus, the trial will not be rewarded (Premature trial). The trial too will not be rewarded when the rat release the bar after the reaction time (Fail trial). The visual stimulus were exposure when the rat press the bar for 500 ms plus one random delay. The random delay is a time between 0 and 200 ms, uniformly distributed.

This software, in addition to monitoring the lever status and the reward this one controlled the stimulus exposure.

## 2.4 Subjects

For the experiments described here, we used six rat Long-Evans *Rattus norvegicus*. They were obtained from the Bioterium Laboratory of Neuroscience of the Systems and Computational Department of Physics of UFPE (Recife, Brazil). They weigh 300g - 370g, between 12 and 15 weeks of age. The rats were housed in cages and maintained in the light / dark cycle of 12 h and had free access to water and commercial feed Presence (Neovia - Paulínia, Brazil) until the beginning of the training. The animals were kept under controlled feed restriction and weight at 90 % by weight *ad libitum*. The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of UFPE (CEUA: 24/2016), in accordance with the basic principles for research animals established by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

The rats were divided into two behavioral task: *SRT* (n=3) *DRRD* (n=3).

## 2.5 Surgical procedures and Ephys

The arrays were constructed with 50 m tungsten wires, coated with Teflon (California Fine Wire Company) soldered in a printed circuit board and connected to a miniature connector (Omnetics Connector Corporation, Minneapolis, MN). The microelectrode arrays were designed for five different cortical regions: PFC, S1, M1, PPC and V1. The arrays configuration, detailed in Table 1, was established from stereotactic coordinates based on the atlas from Paxinos and Watson (2007). The arrays were placed in rats under deep ketamine (150 mg/kg i.p.) and xylazine (5 mg/kg i.p.) anesthesia, using a stereotaxic head holder. through a surgical procedure described by Wiest et al., [4]. After seven days of the surgical procedure the rats were considered good to start the behavioral tasks.

	PFC	M1	S1	PPC	V1
AP (mm)	4.00	2.00	0.84	-4.36	-7.20
ML (mm)	0.50	2.50	5.00	4.20	3.50
DV (mm)	-3.70	-1.50	-2.00	-1.80	-1.50

**Table 1** Steriotactic coordinates and arrangement of arrays used in the DRRD task.

Continuous electrophysiological data for five regions was recorded simultaneously with behavioral activity,

at a sampling rate of 24414 Hz with a band width of 0.1 Hz to 8 kHz. The rat was connected to ZIF-Clip® which was connected to a headstage via a commutator (AC32, Tucker-Davis Technologies, Alachua, FL) in order to make the possibility of free movement of the rat during the record. Besides, PZ2 amplifier system (TDT) was used to record the local field potential (LFP). Behavioral activity was recorded as digital inputs together with the electrophysiology.

We used the toolbox Wave\_Clus [14] to do spike sorting in the raw data. To evaluate LFP noise we calculate the spectrogram in Python programming language using the SciPy and Matplotlib packages.

### 3 Results

After construction of the operant conditioning system it was manually tested to see if the dispenser pellet, the visual stimulation system and handshake system were working as desired programming. For the system tester to rat interaction system were chosen as two distinct behavioral paradigms. The SRT and DRRD tasks have been used to evaluate discrimination [13] and memory [15], so they become good experimental models to test the functioning of the system we developed.

Figure 1d and e shows the time distribution that the lever was press for SRT and DRRD task, respectively, for first training session. In this first session, the rat, knew that when pressing the lever occurred the delivery food (FR1), so is expected to have a high density (green line) of trials below 500 ms (premature trial). However the premature trials were not rewarding, so he had to learn to keep the bar pressed, for a time longer than the criterion to be rewarded (DRRD) or release in the time interval of the reaction time. Consequently we have a SRT and DRRD distribution curve with a large deviation (blue line).

After 9 session we observed that the rat was able to learning the SRT task. Since, there was a decrease of the premature trials and the SRT trial concentration around the reaction time (Figure1g).

After 7 session we observed that the rat was able to learning the DRRD task. Since, there was a decrease of the premature trials and the DRRD trial concentration around the criterion (Figure1g).

Thus, the rats were able to interact with our system and we were able to model the frequency of a behavioral response according to each proposed task.

Rat performed a FR1 task during simultaneous recording fo LFP and spike spiking activity in PFC, M1, S1, PPC and V1 to test the noise level that our behavioral system could insert into Ephys (Figure3).

Figure3b shows a raw data of the LFP record for the different regions shows in Figure 3a. The LFP record was made simultaneously with the Sync input of the behavioral system, continuously. The raw data is typical of the LFP record for rats and that it has spikes in some channels.

The coherence map (Figure 3c) was done to confirm if the map of microelectrode array was done correctly. It is possible to identify four large signal densities. The first corresponds to the electrodes inserted in PFC, the second in M1, the third in S1 and PPC (highly synchronized) and the fourth in V1.

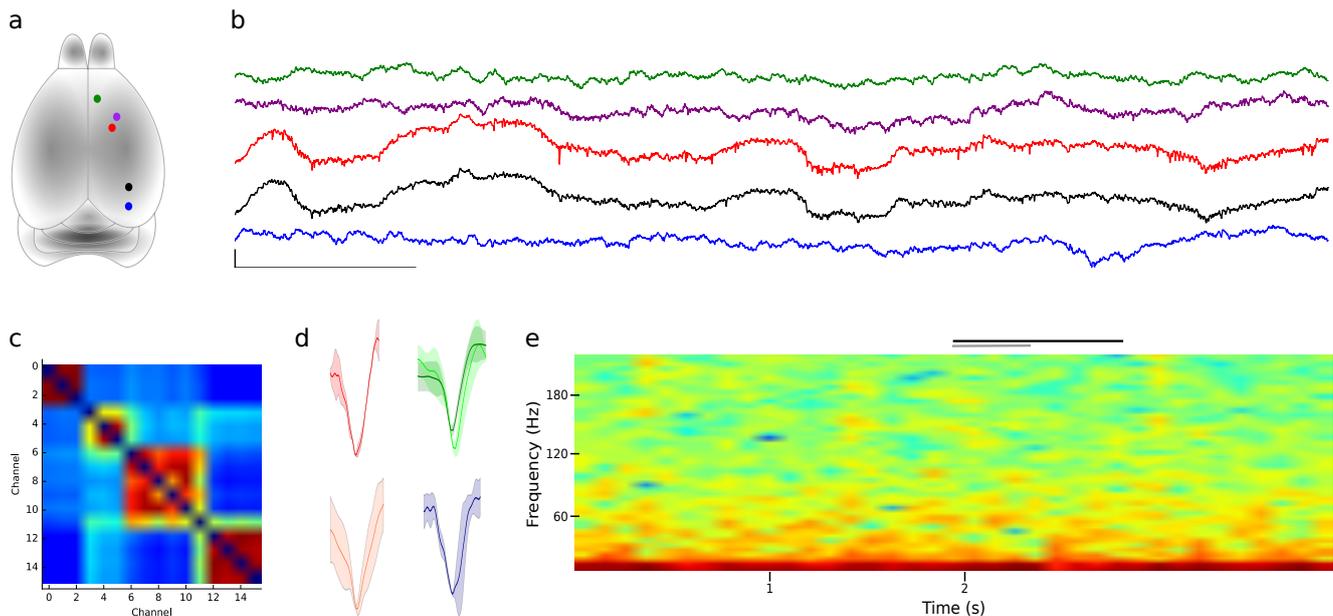
The spectrogram (Figure 3e) we can see the main contributions of frequencies (0 - 220 Hz), at the same time that the rat performs a trial of FR1. At the instant the lever is pressed (black line) and the motor on (gray line) has no increase in the fundamental (60 Hz) and nor harmonic (120 and 180 Hz) levels.

### 4 Discussion

In this article we developed and tested a low-cost behavioral system using an Arduino microcontroller. One of the great advantages of using the Arduino microcontroller is its low acquisition cost, its accuracy, and moreover it is a free hardware platform. By presenting these advantages, laboratories of psychology and neurophysiology have increased the interest both in the development of complete behavioral systems and in additional hardware of commercial behavioral systems [16].

The Arduino has been used successfully in system involving the record of neural activity along with a behavioural paradigm [8], [17], [18], [19]. A system similar to ours was developed by Micallef and collaborators [2]. Micallef and collaborators [2] developed a system that was also based on Arduino and that controlled a reward system and behavioral test, GoNoGo type, and also sent while sending test information to a host computer. In this case the Arduino was responsible for controlling the opening of a water release valve, which was used as a reward, the stimuli that characterized the Go and NoGo trials, a piezo that the rat had to press to respond to the stimuli. We use saccharose pellets as a reward. This requires a more complex release mechanism. Both the [2] and [19] used the Arduino to control valves that controlled the release of water as a reward mechanism.

All experimental data were acquired only using the system we developed without any help from other commercial devices. The animals were able to seize the proposed behavioral tasks and it was possible to perform the electrical activity recording without the interference of electrical noise. So our system has proven to be a



**Fig. 3 Samples of electrophysiological recordings.** (a) Whole rat brain with de color schematic showing the areas of the microwire electrode array was implanted for local field potential (LFP) recordings. The colors dots green, purple, red, black and blue correspond to prefrontal cortex (PFC), primary motor cortex (M1), primary somatosensory cortex (S1), parietal posterior cortex (PPC) and primary visual cortex (V1), respectively. (b) Sample LFP signal of the different areas while the rat performed a FR1 task. It's possible identify some spiky. The vertical black line correspond to 100 ms and the horizontal vertical line to 0.1 mV The color scheme is the same described in a. (c) Coherence matrix between the channels to LFP frequency (0-50 Hz). (d) Spikes for some areas. The color scheme is the same described in a. (e) Power spectra LFP of PPC. The black line represents the period that the animal kept the lever pressed while the LFP was registered. The gray line represents the period that the reward mechanism was powered on. Note that the LFP power in the electric noise (60 Hz) don't increase when the rat press the bar (black line) and the mechanism reward was powered on (red line).

dependable platform for mastering different behavioral tasks.

## References

1. A. Gomez-Marin, J.J. Paton, A.R. Kampff, R.M. Costa, Z.F. Mainen, *Nature neuroscience* **17**(11), 1455 (2014)
2. A.H. Micallef, N. Takahashi, M.E. Larkum, L.M. Palmer, *Frontiers in cellular neuroscience* **11**, 156 (2017)
3. M.A. Nicolelis, S. Ribeiro, *Current opinion in neurobiology* **12**(5), 602 (2002)
4. M. Wiest, E. Thomson, J. Meloy, *Methods for Neural Ensemble Recordings* pp. 1–19 (2008)
5. B. Skinner, New York (1938)
6. G.S. Reynolds, (1975)
7. T.W. Schubert, A. D'Ausilio, R. Canto, *Behavior research methods* **45**(4), 1332 (2013)
8. O. Pineño, *Behavior research methods* **46**(1), 196 (2014)
9. N. Solari, K. Sviatko, T. Laszlovszky, P. Hegedüs, B. Hangya, *Frontiers in systems neuroscience* **12**, 18 (2018)
10. Dispensador de peletes alimentares implementado em plataforma de hardware de microcontrolador
11. R.M. Church, *Annals of the New York Academy of Sciences* **423**(1), 566 (1984)
12. N.J. Smith, N.K. Horst, B. Liu, M.S. Caetano, M. Laubach, *Frontiers in integrative neuroscience* **4**, 124 (2010)
13. N.S. Narayanan, M. Laubach, *Journal of neurophysiology* **101**(6), 2859 (2009)
14. R. Quiroga. *Wave clus-simulator data* (2012)
15. H. Lejeune, *Physiology & behavior* **45**(2), 321 (1989)
16. A. D'Ausilio, *Behavior research methods* **44**(2), 305 (2012)
17. C.D. Wilms, M. Häusser, *Nature communications* **6**, 6464 (2015)
18. M.A. Nashaat, H. Oraby, R.N. Sachdev, Y. Winter, M.E. Larkum, *Journal of neurophysiology* **116**(4), 1542 (2016)
19. K. Devarakonda, K.P. Nguyen, A.V. Kravitz, *Behavior research methods* **48**(2), 503 (2016)

## **7 PHASE SYNCHRONIZATION BETWEEN CORTICAL AREAS DURING A TIME TASK**

Artigo será submetido para publicação no Periódico *NeuroImage*

# Phase synchronization between cortical areas during a time task

Leandro A. A. Aguiar

*Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brazil*

Fernanda S. Matias

*Institute of Physics, Federal University of Alagoas (UFAL), Maceio, Brazil*

Nivaldo A. P. de Vasconcelos

*Department of Biomedical Engineering, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil*

*Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), School of Medicine, University of Minho, Braga, 4710-057, Portugal*

*ICVS/3Bs – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal*

Romildo de Albuquerque Nogueira

*Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brazil*

Claudio R. Mirasso

*Instituto de Fisica Interdisciplinar y Sistemas Complejos, CSIC-UIB, Campus Universitat de les Illes Balears, E-07122 Palma de Mallorca, Spain*

Mauro Copelli

*Physics Department, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil*

Marcelo Reyes

*Centro de Matematica Computação e Cognição (CMCC), Federal University of ABC (UFABC), Santo Andre, Brazil*

Pedro Carelli

*Physics Department, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil*

---

## Abstract

Cortical oscillations play an important role in cognition, especially the oscillations that are synchronized to different regions. Recently a type of counter-intuitive synchronization called anticipated synchronization (AS) was discovered. In AS the two regions are synchronized, in a unidirectional way, that is, the master sends information to the slave. However, when the phase difference between the regions is verified, the slave is temporarily anticipated in relation to the master. In this work, we have identified AS in rewarded trials. It has been shown that possibly the AS regimens occur in different behavioral tests and have some physiological role.

*Keywords:* Synchronization, Behavioral task, Negative phase

---

## 1. Introduction

Oscillations have an important role in mammalian brains. They are associated with a variety of cognitive functions [1]. Oscillations in neuronal populations are usually characterized by the frequency, where they

are generally classified into five frequency ranges: delta (0.5-3.5 Hz), theta (4-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta (13-30 Hz) and gamma (30-90 Hz) [2].

These frequencies have aroused a growing interest, raising questions about how they are related to different physiological processes, specific activities of perception

12 and sensory-motor or cognitive operations [2]. The co-  
13herent oscillation between two brain regions facilitates  
14the exchange of information between them [3]. In par-  
15ticular, the prefrontal cortex (PFC) and posterior parietal  
16cortex (PPC) exhibit synchrony in different oscillations  
17during different behavioral tasks [4, 5, 6, 7].

18 Recently, Voss [8] has shown that there is a synchron-  
19ization type called anticipated synchronization (AS).  
20The AS can be performed in autonomous dynamical  
21systems coupled unidirectionally in a master-slave (MS)  
22configuration, where the master system influences the  
23slave, but the activity of the slave system precedes that  
24of the master system, somehow predicting its trajec-  
25tory. This type of synchronization can occur as long as  
26the slave system also receives a delayed negative auto-  
27feedback. Until recently, the possibility of occurrence  
28of AS in neural systems remained a hypothesis, given  
29the rather restrictive mathematical character of the in-  
30hibitory self-feedback originally proposed in the Voss  
31[8] formulation.

32 Over the years, it has been shown that AS occurs in  
33an abundance of areas, including theoretical and exper-  
34imental work [9, 10, 11, 12]. In neuroscience Matias et  
35al. [13] shows the emergence of AS in a model where  
36all the mathematical components of the equations have a  
37physiological correlate, to chemical synapses. Through  
38experimental data Matias et al. [14] developed a model  
39where it was possible to obtain synchronization in AS  
40from the theta band to the beta band. Therefore we can  
41assume that this phenomenon extends to other cogni-  
42tive tasks and frequency bands. Models of the songbirds  
43brain involved in song production too show AS regime  
44[15].

45 It is important to note that synchronization has a sig-  
46nificant role in neural processing and coding [3, 16].  
47Different synchronization mechanisms may be required  
48to provide communication flexibility within a single net-  
49work architecture. For example, changes in the state  
50of synchronization may be necessary for short-term  
51changes in the functional state of the brain relative to  
52cognitive processing [17], or long-term changes asso-  
53ciated with learning. In this sense AS can represent a  
54valuable dynamic state still poorly understood. In the  
55present work, we show that AS emerge with the learn-  
56ing of a time behavioral task.

## 57 2. Material and Methods

### 58 2.1. Subjects

59 Long-Evans rat ( $n = 1$ , adult, male, 250 g) was  
60 obtained from the Bioterium Laboratory of Neuro-  
61 science of the Systems and Computational Department

62 of Physics of UFPE (Recife, Brazil). The animal was  
63 housed using a 12-h light/dark cycle and had free ac-  
64cess to water and commercial food Presence (Neovia -  
65 Paulilica, Brazil) until the beginning of the training. The  
66 experimental protocol was approved by the Committee  
67 of Animal Research and Ethics of the UFPE (024/2016),  
68 according to the basic principles for research animals.

### 69 2.2. Surgical procedures

70 The Microelectrode array was constructed with 50  
71  $\mu\text{m}$  tungsten wires, coated with Teflon (California Fine  
72 Wire Company), soldered in a printed circuit board and  
73 connected to a miniature connector (Omnetics Connec-  
74tor Corporation, Minneapolis, MN). The microelectrode  
75 array was designed for five regions: prefrontal cortex  
76 (PFC), primary motor cortex (M1), primary somatosen-  
77sory cortex (S1), parietal posterior cortex (PPC) and pri-  
78mary visual cortex (V1). It is needed mentioning that  
79like in tetrode, each region contains four electrodes.

80 Anesthesia induction was done by an intraperitoneal  
81 (IP) injection of ketamine (150 mg/kg) and xylazine (5  
82 mg/kg). Thereafter, the head was fixed to a stereotactic  
83base in which an incision on the top of the head ex-  
84posed the skull surface. Five small craniotomies were  
85made to access the right hemisphere of PFC (coordi-  
86nates from bregma: anteroposterior [AP]: 4.00; medio-  
87lateral [ML]: 0.50); dorsoventral [DV]: -3.70), M1 (AP:  
882.00 ML: 2.50; DV: -1.50), S1 (AP: 0.84; ML: 4.00;  
89DV: -2.00), PPC (AP: -4.36; ML: 4.20; DV: -1.80), V1  
90(AP: -7.20; ML: 3.50; DV: -1.50).

91 The microelectrode array was positioned above each  
92craniotomy, and a stereotaxic arm was slowly inserted  
93into deep layers of cortex and fixed with dental acrylic.

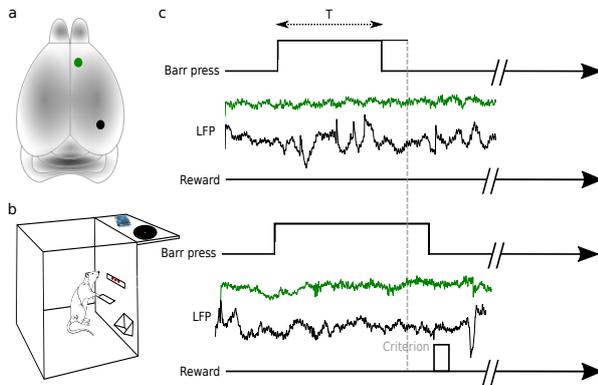
94 After the surgery, the animal received antibiotic and  
95anti-inflammatory therapy, respectively: Pentabiotico®  
96(0.1 mg/mL, intramuscular) single dose immediately,  
97and a specific dose of Meloxicam (1 mg/kg, Subcuta-  
98neous) for two days (every 12 hours). After seven days  
99of the surgical procedure, the rat was considered as re-  
100covered to start the behavioral tasks.

### 101 2.3. Behavioral protocol

102 The rat was undergoing food restriction for one week  
103prior to the training, and also throughout the period of  
104the behavioral task (the water was available *ad libitum*  
105limitless). During the behavioral task, the rat was re-  
106inforced with sucrose pellet (5mg), which was supple-  
107mented in the home cage to maintain the rat's weight  
108at 85% - 90% of the beginning of the food restriction.  
109It needs to emphasize that the rat was trained the be-  
110havioral system developed by our group described in  
111Aguiar et al [18] (Figure-1b).

112 The behavioral task has two assignments. The first 138  
 113 which is named fixed ratio one (FR1), the rat pressed 139  
 114 the lever, and received the reward. It has to be clarified 140  
 115 that the rat is considered to be trained on FR1, if 141  
 116 it has 100 responses throughout the session. When the 142  
 117 rat learned the FR1 task, it started the second task in 143  
 118 which the rat was trained to perform the Differential 144  
 119 Reinforcement of Response Duration (DRRD). In this 145  
 120 task, the rat had to keep a sustained behavioral response 146  
 121 with a minimum time interval (criterion) to receive the 147  
 122 reward [19]. Pressing the lever, the trial was started. 148  
 123 And by keeping the lever pressed for more than 1500 149  
 124 ms, the rat received the reward (Figure-1c (down)). Tri- 150  
 125 als in which the rat released the lever before 1500 ms 151  
 126 were considered as a premature trial (Figure-1c (top)). 152

127 Continuous electrophysiological data for five regions 153  
 128 was recorded simultaneously with behavioral activity, 154  
 129 at a sampling rate of 24414 Hz with a band width of 155  
 130 0.1 Hz to 8 kHz. The rat was connected to ZIF-Clip 156  
 131 <sup>®</sup> which was connected to a headstage via a commu- 157  
 132 tator (AC32, Tucker-Davis Technologies, Alachua, FL) 158  
 133 in order to enable free movement of the rat during the 159  
 134 record. Besides, PZ2 amplifier system (TDT) was used 160  
 135 to record the local field potential (LFP). Behavioral ac- 161  
 136 tivity was recorded as digital inputs together with the 162  
 137 electrophysiology. 163



164  
165  
166  
167  
168  
169  
170  
171  
172  
173  
174  
175  
176  
177  
178  
179  
180  
181  
182  
183  
184  
185  
186  
187  
188  
189  
190  
191  
192  
193  
194  
195  
196  
197  
198  
199  
200  
201  
202  
203  
204  
205  
206  
207  
208  
209  
210  
211  
212  
213  
214  
215  
216  
217  
218  
219  
220  
221  
222  
223  
224  
225  
226  
227  
228  
229  
230  
231  
232  
233  
234  
235  
236  
237  
238  
239  
240  
241  
242  
243  
244  
245  
246  
247  
248  
249  
250  
251  
252  
253  
254  
255  
256  
257  
258  
259  
260  
261  
262  
263  
264  
265  
266  
267  
268  
269  
270  
271  
272  
273  
274  
275  
276  
277  
278  
279  
280  
281  
282  
283  
284  
285  
286  
287  
288  
289  
290  
291  
292  
293  
294  
295  
296  
297  
298  
299  
300  
301  
302  
303  
304  
305  
306  
307  
308  
309  
310  
311  
312  
313  
314  
315  
316  
317  
318  
319  
320  
321  
322  
323  
324  
325  
326  
327  
328  
329  
330  
331  
332  
333  
334  
335  
336  
337  
338  
339  
340  
341  
342  
343  
344  
345  
346  
347  
348  
349  
350  
351  
352  
353  
354  
355  
356  
357  
358  
359  
360  
361  
362  
363  
364  
365  
366  
367  
368  
369  
370  
371  
372  
373  
374  
375  
376  
377  
378  
379  
380  
381  
382  
383  
384  
385  
386  
387  
388  
389  
390  
391  
392  
393  
394  
395  
396  
397  
398  
399  
400  
401  
402  
403  
404  
405  
406  
407  
408  
409  
410  
411  
412  
413  
414  
415  
416  
417  
418  
419  
420  
421  
422  
423  
424  
425  
426  
427  
428  
429  
430  
431  
432  
433  
434  
435  
436  
437  
438  
439  
440  
441  
442  
443  
444  
445  
446  
447  
448  
449  
450  
451  
452  
453  
454  
455  
456  
457  
458  
459  
460  
461  
462  
463  
464  
465  
466  
467  
468  
469  
470  
471  
472  
473  
474  
475  
476  
477  
478  
479  
480  
481  
482  
483  
484  
485  
486  
487  
488  
489  
490  
491  
492  
493  
494  
495  
496  
497  
498  
499  
500

## 2.4. Data Analysis

Exploratory analysis suggested that a strong synchro-  
 nization exists between PFC and PPC regions. So, from  
 the above mentioned five regions, we performed the  
 analysis to only these two regions.

In order to evaluate the synchronization during the  
 DRRD task, from the whole time series of LFP data,  
 for each trial, 400 ms before releasing the lever was se-  
 lected. These separated segments belong to three dif-  
 ferent groups due to the different pressure lever time in-  
 terval ( $\Delta T$ ): *Premature* (Pre) with  $\Delta T < 1000$  ms (with  
 the total number of trials  $n=128$ ), *Almost* with  $1000 <$   
 $\Delta T < 1500$  ms (with the total number of trials  $n=20$ ), and  
*Reward* (Rw) with  $\Delta T > 1500$  ms (with the total number  
 of trials  $n=75$ ).

These signal segments was lowpass filtered in (0-100  
 Hz) and down sampled to a rate of 195 Hz. In order  
 to evaluate the power and synchronization between re-  
 gions we calculated the power spectral density (PSD)  
 and the coherence of the data furrier transform, were  
 done in the Python programming language using the  
 SciPy and Matplotlib packages.

The GCCA Matlab toolbox was used to calculate an-  
 other coherence, Granger causality and phase difference  
 spectral analysis[20]. After the downsample, we ana-  
 lyze on premature trial ( $n=148$ ) and reward trial ( $n=$   
 $75$ ). The GCCA use an autoregressive modeling method  
 (MVAR) to analyze from the signal. The LFP time se-  
 ries requires the ensemble of single-trial time series  
 to be treated as produced from a zero-mean stochastic pro-  
 cess. Therefore, we have preprocessed the LFP time se-  
 ries by including detrending (subtraction of best-fitting  
 line), demeaning (subtraction of the ensemble mean)  
 and normalizing (division by the temporal standard de-  
 viation) of each trial. We consider that the model order  
 of 10 (50 ms) is sufficient to provide good spectral re-  
 solution and avoid overparameterization, the same order  
 was used in [21, 14]. In fact, we verified the consistency  
 of the results using model orders of 10 to 15.

We calculates the time delay ( $\tau$ ) when the sender (S) -  
 received (R) configuration found by Granger Causality.  
 $\tau_{SR} = \phi_{SR}(f_{peak}) / (2\pi f_{peak})$ , where  $f_{peak}$  was the peak  
 frequency observed in the coherence MVAR and the  $\phi_{SR}$   
 was the angle of the phase between S and R.

## 3. Results and discussion

We first calculated the PSD and coherence between  
 all pairs of the PFC and PPC. The PPC exhibited a low  
 peak in activity between 0 - 6 Hz in the PPC regions  
 to Pre e Almost trial (Figure 2a - b). The RW trials

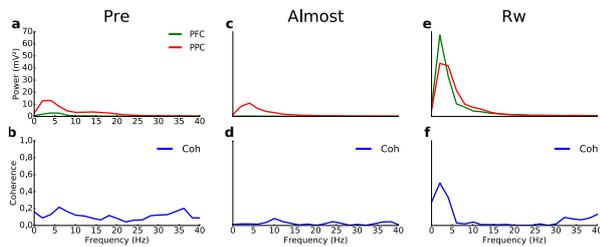


Figure 2: PSD and coherence calculated from the LFP data. a. Pre trial PSD. b. Pre trial Coherence. c. Almost trial PSD. d. Almost trial Coherence. e. Rw trial PSD. g. Rw trial Coherence.

187 exhibited a strong peak in activity in the same frequency  
 188 in both regions. A peak of coherence occurred in those  
 189 trials (RW). This coherence only appeared for two pairs,  
 190 where one pair is seen in Figure 2f.

191 After identifying a coherence between these regions,  
 192 we calculate coherence of MVAR and Granger causal-  
 193 ity spectra. The results for coherence MVAR (Figure- 3  
 194 a, c, e) was similar to the coherence of the data furrier  
 195 transform (Figure 2b, d, f). The coherence value for the  
 196 Rw trials, observed in Figure-3e, was significant when  
 197 compared to the time position of the trials were shuf-  
 198 fled (100 surrogate time series). This is indicative of  
 199 synchronized LFP oscillations between regions. Delta  
 200 oscillations (1-3 Hz), in humans, have used as strategies  
 201 to predict correct trials. In the auditory cortex the power  
 202 delta increased before the auditory stimulus, in correct  
 203 trials [22].

204 Specifically on the pair shown in Figure-3 e and f  
 205 have peaks of coherence and Granger causality (GC) at  
 206 the same frequency, during the Trials Rw. Besides that,  
 207 the influence of PPC for PFC is greater in comparison  
 208 to PFC to PPC, indicating a unidirectionality connec-  
 209 tivity between PFC and PPC. We find a negative phase  
 210 difference ( $\tau$ ) = -83.82 ms, indicating a anticipated syn-  
 211 chronization (AS).

212 Granger causality between PFC and PPC during an-  
 213 other behavioral task has been reported. Seller et al  
 214 [7] found a bi-direcional GC in delta (0.5-4 Hz) and  
 215 uni-direcional in beta (12-30 Hz) oscillation between  
 216 PFC and PPC during a sustained visual attention task.  
 217 In this behavioral task ferrets (*Mustela putorius furo*)  
 218 were trained to keeping a sustained attention delay (5s)  
 219 following a stimulus. To received the reward the fer-  
 220 ret should touch in on of the five windows which had  
 221 the stimulus for a specific time (2.0-3.5 s). The casual  
 222 connectivity occur during the sustained attention period,  
 223 both for delta and beta (bottom-up). This connectivity  
 224 decreased in the period after touch.

225 Salazar et al [6] also found a dominant PPC to PFC,

226 but in beta (10-30 Hz) oscillation during the delay pe-  
 227 riod, in monkeys to perform an oculomotor task. In this  
 228 task a sample stimulus was positioned at 1 of 3 possible  
 229 locations (500 ms), followed by a random delay (800-  
 230 1200 ms). In order to get a reward, the monkey needs a  
 231 saccadic eye movement in the match stimulus after the  
 232 delay. They observed, through the relative phase, 2.45  
 233 to 6.55 ms time lead of PFC before PPC.

The same counter-intuitive dynamics was reported in  
 Brovelli et al. [21] and Matias et al. [14], during a  
 Go/NoGo task in monkeys. Brovelli et al. [21] showed  
 unidirectional GC in beta oscillation (14-30 Hz) with a  
 negative phase delay in sensorimotor cortex of mon-  
 keys. Matias et al. [14] were able to model the Brov-  
 elli et al. [21] experimental data. With the model, it  
 was possible to reproduce the same coherence and GC  
 found in the experimental data, this for 90 ms before  
 the stimulus onset. Other ranges of trials were also an-  
 alyzed. Immediately after the stimulus, the synchron-  
 ized activity decreases and, consequently, the peak in the  
 coherence between pairs of sites also decreases, similar  
 to the Almost trials Figure-3c and d. The synchron-  
 ized activity returned at the finish of the No/Go trials,  
 where the monkey to maintain the hand lever depressed.

Our data show that AS regimes emerge during a time  
 task performed by rats. In order, we suppose that AS can  
 play some physiological role during the performance of  
 a behavioral task. Considering it occurs in different ani-  
 mal species and behavior tasks, but in specific situations  
 like: In our trials rewarded, during the period before the  
 presentation of visual stimuli, and at the end of the tri-  
 als No/Go. In all these conditions the animals needed to  
 inhibit an action such as: releasing the lever (rat), keep-  
 ing the bar pressed (monkey), saccadic eye movement  
 (monkey), don't touch a windows (ferret).

## 261 References

- 262 [1] G. Buzsaki, Rhythms of the Brain, Oxford University Press,  
 2006.
- 263 [2] A. K. Engel, P. Fries, Beta-band oscillation signalling the status  
 264 quo?, Current opinion in neurobiology 20 (2010) 156–165.
- 265 [3] P. Fries, A mechanism for cognitive dynamics: neuronal com-  
 266 munication through neuronal coherence, Trends in cognitive  
 267 sciences 9 (2005) 474–480.
- 268 [4] F. Katsuki, C. Constantinidis, Unique and shared roles of the  
 269 posterior parietal and dorsolateral prefrontal cortex in cognitive  
 270 functions, Frontiers in integrative neuroscience 6 (2012) 17.
- 271 [5] T. J. Buschman, E. K. Miller, Top-down versus bottom-up con-  
 272 trol of attention in the prefrontal and posterior parietal cortices,  
 273 science 315 (2007) 1860–1862.
- 274 [6] R. Salazar, N. Dotson, S. Bressler, C. Gray, Content-specific  
 275 fronto-parietal synchronization during visual working memory,  
 276 Science (2012) 1224000.

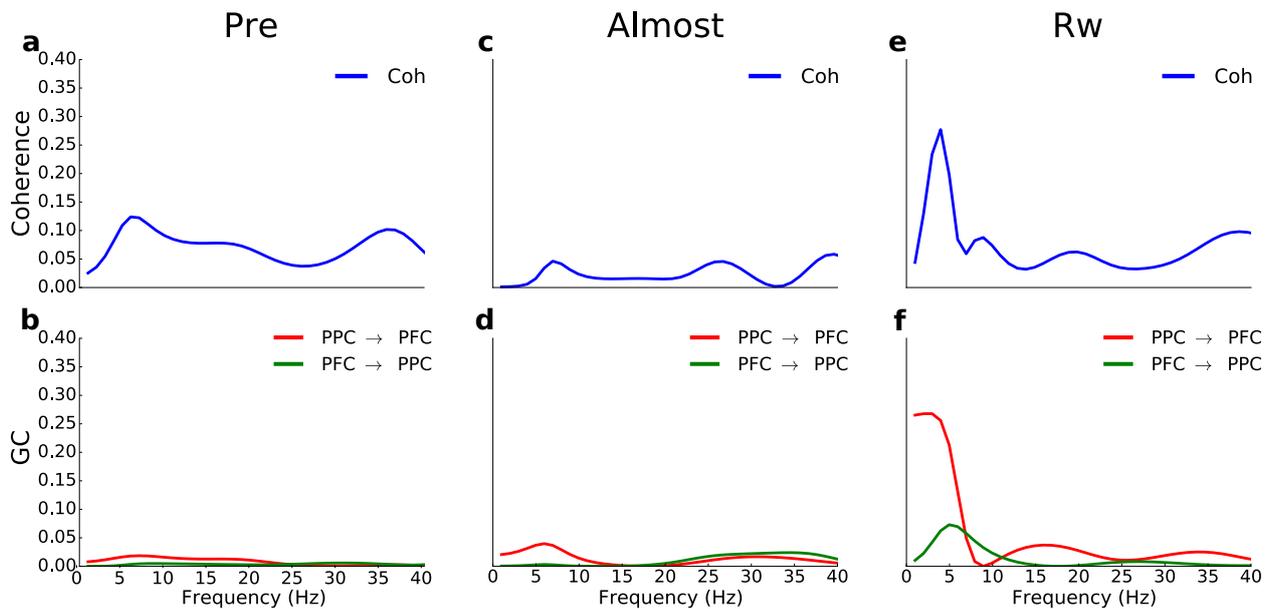


Figure 3: **Coherence and Granger causality (GC) calculated from the MVAR model.** **a.** Pre trial Coherence. **b.** Pre trial GC. **c.** Almost trial Coherence. **d.** Almost trial GC. **e.** Rw trial Coherence. **f.** Rw trial GC.

278 [7] K. K. Sellers, C. Yu, Z. C. Zhou, I. Stitt, Y. Li, S. Radtke- 314  
279 Schuller, S. Alagapan, F. Fröhlich, Oscillatory dynamics in the 315  
280 frontoparietal attention network during sustained attention in the 316  
281 ferret, *Cell reports* 16 (2016) 2864–2874. 317  
282 [8] H. U. Voss, Anticipating chaotic synchronization, *Physical re- 318  
283 view E* 61 (2000) 5115. 319  
284 [9] S. Tang, J. Liu, Experimental verification of anticipated and 320  
285 retarded synchronization in chaotic semiconductor lasers, *Phys- 321  
286 ical review letters* 90 (2003) 194101. 322  
287 [10] Z. Yan, Qs (lag or anticipated) synchronization backstepping 323  
288 scheme in a class of continuous-time hyperchaotic systemsa 324  
289 symbolic-numeric computation approach, *Chaos: An Interdis- 325  
290 ciplinary Journal of Nonlinear Science* 15 (2005) 023902. 326  
291 [11] C. Masoller, H. Z. nindexDamianDamiaan, Anticipated syn-  
292 chronization in coupled chaotic maps with delays, *Physica A: 327  
293 Statistical Mechanics and its Applications* 300 (2001) 359–366.  
294 [12] M. Kostur, P. Hänggi, P. Talkner, J. L. Mateos, Anticipated syn-  
295 chronization in coupled inertial ratchets with time-delayed feed-  
296 back: a numerical study, *Physical review E* 72 (2005) 036210.  
297 [13] F. S. Matias, P. V. Carelli, C. R. Mirasso, M. Copelli, Antici-  
298 pated synchronization in a biologically plausible model of neu-  
299 ronal motifs, *Physical Review E* 84 (2011) 021922.  
300 [14] F. S. Matias, L. L. Gollo, P. V. Carelli, S. L. Bressler, M. Copelli,  
301 C. R. Mirasso, Modeling positive granger causality and negative  
302 phase lag between cortical areas, *NeuroImage* 99 (2014) 411–  
303 418.  
304 [15] G. C. Dima, M. Copelli, G. B. Mindlin, Anticipated synchro-  
305 nization and zero-lag phases in population neural models, *Inter-  
306 national Journal of Bifurcation and Chaos* 28 (2018) 1830025.  
307 [16] R. Brette, Computing with neural synchrony, *PLoS computa-  
308 tional biology* 8 (2012) e1002561.  
309 [17] S. L. Bressler, J. S. Kelso, Cortical coordination dynamics and  
310 cognition, *Trends in cognitive sciences* 5 (2001) 26–36.  
311 [18] L. A. A. Aguiar, N. A. P. de Vasconcelos, A. Fontenele, M. Reys,  
312 M. Copelli, P. V., Open hardware low cost system for behavioral  
313 experiments simultaneously with electrophysiological record-

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conseguimos desenvolver e testar o sistema comportamental para diferentes paradigmas comportamentais. Os animais conseguiram apreender as tarefas propostas sendo possível realizar o registro da atividade elétrica sem a interferência de ruído elétrico. Portanto, o nosso sistema provou ser uma plataforma confiável para realizar distintos paradigmas comportamentais.

Além do mais, foi possível identificar pela primeira vez em ratos realizando uma tarefa de contagem de tempo regime de SA. Diante disso acreditamos que a SA deve desempenhar algum papel fisiológico durante a realização de uma tarefa comportamental. Uma vez que ocorre em diferentes espécies e tarefas, mas em situações específicas como: Em nossas trials recompensadas, durante o período que antecede a apresentação de estímulos visuais, e no final das trials No/Go. Em todas essas condições os animais precisavam inibir uma ação como: soltar a alavanca (rato), manter a barra pressionada (macaco), movimento ocular (macaco).

## 9 ANEXOS



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br

Recife, 17 de junho de 2016.

Ofício nº 60/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Pedro Valadão Carelli**

Departamento de Física

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **0024/2016**

Certificamos que a proposta intitulada “**Emergência de sincronização antecipada no aprendizado de tarefas cognitivas e motoras**”, registrada com o nº **0024/2016**, sob a responsabilidade de Prof. Dr. **Pedro Valadão Carelli** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 31/05/2016.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	36 meses
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> /Long-Evans
Nº de animais	36
Peso/Idade	90 dias/350g
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Departamento de Física da UFPE

Atenciosamente,

 Prof. Dr. Pedro V. Carelli  
Presidente da CEUA / CCB - UFPE  
SIAPE 1801584

## Criticality between cortical states

Antonio J. Fontenele,<sup>1</sup> Nivaldo A. P. de Vasconcelos,<sup>1, 2, 3, 4, \*</sup> Thaís Feliciano,<sup>1</sup> Leandro A. A. Aguiar,<sup>1, 5</sup> Carina Soares-Cunha,<sup>3, 4</sup> Bárbara Coimbra,<sup>3, 4</sup> Leonardo Dalla Porta,<sup>1, 6</sup> Sidarta Ribeiro,<sup>7</sup> Ana João Rodrigues,<sup>3, 4</sup> Nuno Sousa,<sup>3, 4</sup> Pedro V. Carelli,<sup>1, †</sup> and Mauro Copelli<sup>1, ‡</sup>

<sup>1</sup>*Physics Department, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil*

<sup>2</sup>*Department of Biomedical Engineering, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil*

<sup>3</sup>*Life and Health Sciences Research Institute (ICVS),*

*School of Medicine, University of Minho, Braga, 4710-057, Portugal*

<sup>4</sup>*ICVS/3Bs - PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal*

<sup>5</sup>*Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,*

*Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brazil*

<sup>6</sup>*Systems Neuroscience, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain*

<sup>7</sup>*Brain Institute, Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, 59056-450, Brazil*

(Dated: October 27, 2018)

Since the first measurements of neuronal avalanches [1], the critical brain hypothesis has gained traction [2]. However, if the brain is critical, what is the phase transition? For several decades it has been known that the cerebral cortex operates in a diversity of regimes [3], ranging from highly synchronous states (e.g. slow wave sleep [4], with higher spiking variability) to desynchronized states (e.g. alert waking [5], with lower spiking variability). Here, using independent signatures of criticality, we show that a phase transition occurs in an intermediate value of spiking variability. The critical exponents point to a universality class different from mean-field directed percolation (MF-DP). Importantly, as the cortex hovers around this critical point [6], it follows a linear relation between the avalanche exponents that encompasses previous experimental results from different setups [7, 8] and is reproduced by a model.

It is well established that cortical activity exhibits a rich repertoire of dynamical states [9–11]. This knowledge, initially based on electroencephalographic (EEG) recordings, later reached the spiking activity of large neuronal populations, in which the variability level has been used as a proxy of the cortical state [3, 12–14]. However, only recently has the diversity of cortical states been systematically considered in studies of criticality [15, 16].

In the first results that fuelled the critical brain hypothesis, Beggs and Plenz observed local field potential (LFP) neuronal avalanches *in vitro* with power law size distributions  $P(s) \sim s^{-1.5}$ . The exponent coincides with that of a critical branching process, which has driven significant efforts towards the idea that the brain hovers around a critical point belonging to the mean-field directed percolation (MF-DP) universality class [17].

Findings for spiking data have, however, raised some controversy: on one hand, power law size distributions were found during strong slow LFP oscillations, under ketamine-xylazine [15] and isoflurane [16] anaesthesia, but on the other hand, long-range time correlations (another statistical signature of criticality [18]) were observed during fast LFP oscillations in freely-behaving rats, but not under ketamine-xylazine anaesthesia [15]. Those results lead to a conundrum, where the signatures of a critical state might be dependent on the level of synchronization, thus challenging the whole picture of

directed percolation, which involves no oscillations whatsoever, and where the system goes from an absorbing to an active state.

To further investigate this topic we quantified the variety of cortical states in terms of the coefficient of variation (CV) of the summed population activity in the primary visual cortex of urethane-anaesthetized rats [14]. We recorded a total of 1628 units (Methods, Tables S1 and S2) in deep layers of the primary sensory cortex of urethane-anesthetized rats ( $n = 8$ ), under spontaneous activity, during long periods ( $\geq 200$  min). We employed high-count sites silicon probes (64/32 channels, see Methods), to record spiking activity of large neuronal populations (Fig. 1a). Given that the *in vivo* cortical dynamics crosses a wide range of states [19], the aim of this paper is to study the signatures of criticality as a function of the cortical state assessed by CV.

Spiking cortical activity continuously changes its variability level under urethane anesthesia as well as in awake animals [12, 14]. The coefficient of variation (CV, Methods) has been used as an index of population spiking variability [12, 14]. We calculated CV within non-overlapping 10s windows. In that time scale, CV typically changes rapidly [3, 12, 14, 19] (Fig. 1b). Within each of these windows, for increasing values of CV, spiking activity ranges from completely desynchronized to a strongly synchronized state (Fig 1c). In what follows, we sort results according to CV values and average over consecutive percentiles to obtain  $\langle CV \rangle$  as a representative of a given spiking variability level (Fig. S1). Different spiking correlation structures underlie those different regimes (Fig. 1d,  $p \ll 0.01$ , ranksum test), in which both mean

\* AJF and NAPV contributed equally.

† pedro.carelli@ufpe.br

‡ mcopelli@df.ufpe.br