

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

HELLEN CRISTINA DA COSTA

CLASSIFICAÇÃO DE INTERAÇÕES SOCIAIS EM CAMUNDONGOS: AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE NEURAL DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL VIA IMAGEAMENTO DE CÁLCIO  
E APRENDIZADO DE MÁQUINA

CURITIBA

2026

HELLEN CRISTINA DA COSTA

CLASSIFICAÇÃO DE INTERAÇÕES SOCIAIS EM CAMUNDONGOS: AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE NEURAL DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL VIA IMAGEAMENTO DE CÁLCIO  
E APRENDIZADO DE MÁQUINA

Dissertação apresentada como requisito parcial  
à obtenção do grau de Mestre em Física, no  
Programa de Pós-Graduação em Física da Uni-  
versidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Thiago de Lima Prado.

CURITIBA

2026

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Costa, Hellen Cristina da

Classificação de interações sociais em camundongos: avaliação da atividade neural do córtex pré-frontal via imageamento de cálcio e aprendizado de máquina / Hellen Cristina da Costa. – Curitiba, 2026.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Física.

Orientador: Thiago de Lima Prado

1. Córtex cerebral. 2. Cálcio. 3. Aprendizado do computador. 4. Interação social. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Física. III. Prado, Thiago de Lima. IV. Título.

Bibliotecário: Douglas Lenon da Silva CRB-9/1892

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FÍSICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **HELLEN CRISTINA DA COSTA**, intitulada: **"Classificação de Interações Sociais em Camundongos: Avaliação da Atividade Neural do Córtex Pré-Frontal via Imageamento de Cálcio e Aprendizado de Máquina"**, sob orientação do Prof. Dr. THIAGO DE LIMA PRADO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 18 de Fevereiro de 2026.

Assinatura Eletrônica

19/02/2026 10:53:22.0

THIAGO DE LIMA PRADO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

19/02/2026 09:22:57.0

QUELEN IANE GARLET

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

18/02/2026 20:42:32.0

RICARDO LUIZ VIANA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## **AGRADECIMENTOS**

- A Deus, por iluminar meu caminho e por me sustentar com fé nos momentos em que eu mais precisei de força.
- Aos meus pais, que não mediram esforços para me apoiar na busca pela realização dos meus sonhos. Agradeço pelo suporte constante e pelo amor incondicional, essenciais para eu superar a distância de casa.
- À minha família, por ser meu refúgio sempre que precisei de acolhimento e afeto.
- Aos meus amigos, pelas risadas que tornaram os dias mais leves e pela parceria nas reuniões de grupo, durante as disciplinas e na colaboração nos trabalhos.
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Thiago de Lima Prado, pelos ensinamentos e pela confiança depositada em meu trabalho. Agradeço pela orientação contínua desde a graduação, fundamental para meu crescimento como pesquisadora.
- Aos meus professores, por todo o aprendizado desde o início da minha vida escolar. Um agradecimento especial aos integrantes do grupo de pesquisa, Prof. Dr. Sergio Lopes e Prof. Dr. Ricardo Viana, pelo suporte técnico, pelas discussões valiosas e pela parceria acadêmica construída ao longo desses anos.
- Aos professores Alexis Faure e Sylvie Granon, do Instituto de Neurociências Paris-Saclay pela colaboração e disponibilização dos dados essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.
- À Fundação Araucária pelo apoio financeiro que viabilizou a execução deste trabalho.

*O homem deve saber que de nenhum outro lugar, mas apenas do encéfalo, vem a alegria, o prazer, o riso e a diversão, o pesar e o luto, o desalento e a lamentação. E por meio dele, de uma maneira especial, nós adquirimos sabedoria e conhecimento, enxergamos e ouvimos, sabemos o que é justo e injusto, o que é bom e o que é ruim, o que é doce e o que é insípido... E pelo mesmo órgão nos tornamos loucos e delirantes, e medos e terrores nos assombram... Todas essas coisas nós temos de suportar quando o encéfalo não está sadio... Nesse sentido, opino que é o encéfalo quem exerce o maior poder no homem.*

**- Hipócrates, Da Doença Sagrada (Século IV a.C.)**

## RESUMO

A compreensão dos mecanismos pelos quais o cérebro codifica interações sociais complexas permanece um desafio central na neurociência de sistemas. O presente trabalho teve como objetivo investigar se a dinâmica de atividade de populações de neurônios no Córtex Pré-Frontal (PFC) contém informações suficientes para a classificação automatizada de estados comportamentais em camundongos. Para tanto, empregou-se a técnica de microendoscopia de fluorescência combinada com indicadores de cálcio geneticamente codificados, permitindo o registro da atividade de centenas de neurônios em animais em livre movimento durante tarefas de interação social. O processamento dos sinais foi realizado via algoritmo MIN1PIPE, seguido pela análise da topologia da rede através da métrica de Força Nodal Líquida. Subsequentemente, utilizou-se o algoritmo *Random Forest* para treinar modelos preditivos baseados nos padrões temporais da atividade neural. Os resultados demonstraram que um subconjunto de apenas 10 neurônios foi suficiente para distinguir comportamentos sociais e não sociais com acurácias superiores a 90%, atingindo 98% em sessões específicas. A análise de dinâmica temporal revelou uma convergência entre as escalas de processamento da rede e as transições comportamentais do animal. Além disso, a análise comparativa validada pelo teste t de Welch revelou que neurônios anticorrelacionados apresentam, frequentemente, maior poder preditivo do que neurônios altamente sincronizados. Isso sugere que a sincronia massiva gera redundância, enquanto a segregação funcional fornece o contraste necessário para a codificação eficiente. Conclui-se que o PFC mantém uma representação robusta da interação social baseada no equilíbrio entre coesão e oposição de fase, validando a abordagem interdisciplinar como uma ferramenta eficaz para a decodificação de circuitos neurais.

**Palavras-chaves:** córtex pré-frontal; imageamento de cálcio; aprendizado de máquina; comportamento social; dinâmica neural.

## ABSTRACT

The understanding of the mechanisms by which the brain encodes complex social interactions remains a central challenge in systems neuroscience. The present study aimed to investigate whether the activity dynamics of neuronal populations in the Prefrontal Cortex (PFC) contain sufficient information for the automated classification of behavioral states in mice. To this end, fluorescence microendoscopy (miniscopes) combined with genetically encoded calcium indicators was employed, allowing for the simultaneous recording of activity from hundreds of neurons in freely moving animals during standardized social interaction tasks. Signal processing was performed via the MIN1PIPE algorithm, followed by network topology analysis using the Node Strength metric. Subsequently, the Random Forest supervised machine learning algorithm was used to train predictive models based on the temporal patterns of neural activity. The results demonstrated that a subset of only 10 neurons was sufficient to distinguish between social and non-social behaviors with accuracies exceeding 90%, reaching 98% in specific sessions. Temporal dynamics analysis revealed a convergence between the network's processing scales and the animal's behavioral transitions. Furthermore, comparative analysis validated by Welch's t-test revealed that anticorrelated neurons frequently exhibit greater predictive power than highly synchronized neurons. This suggests that massive synchrony generates redundancy, while functional segregation provides the necessary contrast for efficient encoding. It is concluded that the Prefrontal Cortex maintains a robust representation of social interaction based on the balance between cohesion and functional segregation, validating the integration of optical neurotechnology and artificial intelligence as an effective approach for the study of neural circuits.

**Key-words:** prefrontal cortex; calcium imaging; machine learning; social behavior; neural dynamics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – Representação digital de um circuito de neurônios criado por cientistas. . . . . 27
- FIGURA 2 – Ilustração de um neurônio e suas partes. Os dendritos recebem os sinais, transmitem para o corpo celular e para o axônio, que repassa para outros neurônios. FONTE: (Alberts, 2017). . . . . 28
- FIGURA 3 – Ilustração do Potencial de ação da membrana ao longo do tempo. Ao receber um limiar de força suficiente para que ocorra a troca de íons, o potencial aumenta de forma instantânea, cai e depois retorna ao seu estado normal. . . . . 29
- FIGURA 4 – Homologia Estrutural e Funcional do Córtex Pré-Frontal Medial (mPFC) em Humanos e Roedores. O diagrama demonstra a correspondência das sub-regiões Pré-Límbico (PL) e Infra-Límbico (IL) do PFC medial do rato (modelo funcionalmente análogo ao camundongo) com suas regiões equivalentes no cérebro humano. A região PL é aproximadamente análoga à área de Brodmann 32, e a IL, à área 25, com base na conectividade talâmica. A figura também ilustra a divisão simplificada do PFC medial do roedor em regiões dorsomedial e ventromedial. . . . . 32
- FIGURA 5 – Sistemas Moduladores Difusos com Projeção para o PFC. Representação esquemática das vias dopaminérgicas mesocortico-límbicas. O diagrama destaca a origem das projeções na Área Tegmentar Ventral (VTA) e sua inervação difusa no córtex frontal, um circuito conservado evolutivamente e essencial para a atribuição de valência motivacional em interações sociais. FONTE: Adaptado de (Bear, 2017). . . . . 32
- FIGURA 6 – Esquema Funcional Simplificado das Subdivisões do Córtex Pré-Frontal Humano. Representação das principais áreas do PFC e suas respectivas funções na cognição de ordem superior. O Córtex Cingulado Anterior (CCA) atua como o ponto inicial do processamento da razão, sendo encarregado de focalizar a atenção perceptual e cognitiva e de modular a atividade das áreas funcionais subsequentes. As áreas Dorsolaterais (DL-PFC) e Ventrolaterais (VL-PFC) são cruciais para a memória de trabalho, o raciocínio e a comparação de novas informações com o conhecimento prévio (informações antigas). FONTE: Adaptado de (Lent, 2010). . . . . 38

FIGURA 7 – Organização anatômica do Córtex Pré-Frontal em humanos e camundongos. (A) Representação esquemática do córtex pré-frontal humano, destacando suas principais subdivisões funcionais: dmPFC (dorsomedial prefrontal cortex; córtex pré-frontal dorsomedial), mPFC (medial prefrontal cortex; córtex pré-frontal medial) e vmPFC (ventromedial prefrontal cortex; córtex pré-frontal ventromedial). Os números indicados (6, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 25 e 32) correspondem às áreas de Brodmann (BA), uma classificação citoarquitetônica do córtex cerebral humano baseada na organização celular. Em especial, a BA 24 integra o córtex cingulado anterior (anterior cingulate cortex – ACC), enquanto as BA 25 e 32 estão associadas a regiões do CPF medial e ventromedial envolvidas em regulação emocional, motivação e cognição social. (B) Representação do córtex pré-frontal do camundongo, evidenciando regiões consideradas funcionalmente homólogas às subdivisões humanas: PL (Córtex Pré-Límbico), IL (Córtex Infralímbico) e ACC (Córtex Cingulado Anterior). As regiões coloridas ilustram as correspondências anatômicas e funcionais entre o córtex pré-frontal humano e o murino, que fundamentam o uso de modelos animais para o estudo dos circuitos pré-frontais envolvidos no comportamento social e em transtornos do neurodesenvolvimento. FONTE: Adaptado de (Mohapatra; Wagner,2023). . . . . 39

FIGURA 8 – Sistemas modulatórios colinérgicos de projeção difusa no encéfalo humano. O esquema em corte sagital evidencia as duas principais vias de origem da inervação colinérgica. A primeira, proveniente do Complexo do Prosencéfalo Basal (incluindo os núcleos do septo medial e o núcleo basal de Meynert), envia projeções amplas e difusas diretamente para o hipocampo e para todo o neocórtex, estruturas críticas para a aprendizagem e formação de memória. A segunda via origina-se no tronco encefálico (complexo pontomesencefalotegmentar) e projeta-se predominantemente para o tálamo dorsal, regulando a excitabilidade sensorial e os ciclos de sono-vigília. FONTE: Adaptado de (Bear, 2017). . . . . 44

FIGURA 9 – O ciclo vital da acetilcolina (ACh) na terminação nervosa. O esquema ilustra o processo passo a passo da transmissão colinérgica. Primeiro, a colina é capturada do meio externo para dentro do terminal nervoso. Em seguida, ocorre a etapa de síntese: a enzima colina acetiltransferase (ChAT) atua como o catalisador crucial, fundindo a colina com a Acetil-CoA para formar a Acetilcolina. O neurotransmissor é então empacotado em vesículas e liberado na fenda sináptica. Após ativar os receptores na célula vizinha, a ACh é rapidamente degradada pela enzima acetilcolinesterase (AChE), liberando a colina para ser recaptada e reiniciar o ciclo. FONTE: Adaptado de (Bear, 2017). . . . . 45

FIGURA 10 – Design e princípios ópticos do microscópio miniaturizado de um fóton. (A) Esquema dos componentes internos e do trajeto da luz. A luz de excitação (LED azul) passa por um colimador e um filtro de excitação, sendo refletida por um espelho dicróico em direção ao tecido através da lente objetiva GRIN (Índice de Gradiente). A fluorescência emitida pelos neurônios (verde) retorna pela lente, atravessa o espelho dicróico e um filtro de emissão, sendo finalmente focada por uma lente acromática no sensor CMOS. O diagrama à direita demonstra a configuração para estruturas profundas, onde uma lente GRIN de relé (relay lens) é implantada no cérebro para alcançar as células marcadas (pontos verdes). (B) Exemplo de um Miniscópio UCLA de código aberto montado na cabeça de um camundongo. O dispositivo de 3g é fixado via baseplate, permitindo o registro em livre movimento, embora o cabo coaxial possa influenciar sutilmente a interação social. FONTE: Adaptado de (Aharoni; Hoogland, 2019). . . . . 49

- FIGURA 11 – Pipeline geral e demonstração do algoritmo MIN1PIPE. (A) Estrutura global do processamento: o algoritmo recebe os dados brutos de imagem do miniscópio e fornece como saída componentes de regiões de interesse (ROIs) processados, contendo a localização espacial e os traços temporais de cálcio. O processamento ocorre em módulos seriais: realce neural, correção hierárquica de movimento e extração de sinal limpo. (B) Detalhe do módulo de correção de movimento: baseado no método KLT-Log Demons, o sistema classifica os quadros em estáveis e instáveis para realizar o registro em três níveis de precisão. (C) Visualização das etapas-chave do processo. Da esquerda para a direita: quadros do vídeo bruto (com alta flutuação de fundo); vídeo com realce neural (onde os sinais neurais tornam-se predominantes); e o vídeo totalmente processado, contendo apenas os sinais neurais extraídos e livres de ruído (denoised) como componentes independentes. FONTE: Adaptado de (Lu *et al.*, 2018). . . . . 51
- FIGURA 12 – Paradigmas comportamentais clássicos para avaliação da interação social. (A) Tarefa de Interação Social (SIT): Representação esquemática do teste em campo aberto, caracterizado pela interação livre e recíproca entre o animal experimental (Hospedeiro, representado pelo camundongo preto) e o co-específico desconhecido (Visitante, representado pelo camundongo branco). (B) Tarefa de Três Câmaras (3-CH): Configuração do teste de preferência social utilizando recipientes perfurados. Neste cenário, o visitante é mantido contido, permitindo que o hospedeiro investigue o estímulo social através dos orifícios sem contato físico direto. Esta configuração isola a motivação voluntária para aproximação e elimina a variabilidade da interação física. FONTE: Adaptado de (Lhopitallier *et al.*, 2022) . . . . . 53
- FIGURA 13 – Representação esquemática da hierarquia dos campos da Inteligência Artificial O diagrama ilustra a relação de subconjuntos entre as áreas: a Inteligência Artificial (círculo externo) é a área abrangente dedicada à simulação de comportamento inteligente; o Aprendizado de Máquina (círculo intermediário) é o subcampo focado em algoritmos estatísticos que extraem padrões de dados sem a programação explícita de regras; e o Aprendizado Profundo (círculo interno) constitui uma especialização do Aprendizado de Máquina que utiliza redes neurais artificiais com múltiplas camadas para processar representações de alta complexidade. . . . . 56

- FIGURA 14 – Taxonomia dos principais paradigmas de Aprendizado de Máquina. O diagrama ilustra os diferentes fluxos de processamento de informação: (Esquerda) Aprendizado Supervisionado, onde o modelo é treinado com dados rotulados (entrada-saída); (Centro) Aprendizado Não Supervisionado, onde o algoritmo busca padrões e estruturas ocultas em dados não rotulados; e (Direita) Aprendizado por Reforço, onde um agente aprende uma política de ação através da interação com o ambiente, baseando-se em recompensas e punições. . . . . 57
- FIGURA 15 – Arquitetura de funcionamento do classificador Random Forest. O diagrama ilustra o fluxo de processamento de um método de *ensemble*: o conjunto de dados alimenta simultaneamente  $K$  Árvores de Decisão independentes. Cada árvore processa a entrada e gera sua própria predição (Classe 1 a Classe K). O sistema agrega essas decisões individuais através de um mecanismo de Votação da Maioria para determinar a Classe Final Prevista, resultando em uma predição estatisticamente mais robusta e estável do que a de um único estimador. . . . . 59
- FIGURA 16 – Visão geral do fluxo de trabalho experimental e analítico. O estudo foi dividido em três etapas principais: (A) Experimento: Aquisição de imagens de cálcio *in vivo* do córtex prefrontal utilizando microscópio em camundongos em livre movimento durante as tarefas de Três Câmaras (3CH) e Interação Social (SIT). (B) Organização dos Dados: Processamento dos registros brutos de fluorescência para identificação de neurônios individuais e extração dos traços temporais de atividade de cálcio. (C) Análise de Dados: Análise de correlação da atividade neuronal utilizada para seleção de atributos para o treinamento do classificador *Random Forest* na identificação de estados comportamentais. . . . . 63

FIGURA 17 – Matrizes de correlação para cada comportamento calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor. Os eixos horizontal e vertical representam os índices dos neurônios registrados simultaneamente na rede. A escala de cores indica o grau de interdependência linear entre os pares neuronais: tons de vermelho representam correlações positivas, enquanto tons de azul indicam anticorrelações. Valores situados no intervalo de ruído $[-0,3; 0,3]$ (Z-score) foram desconsiderados para evidenciar a estrutura funcional da rede. Dados correspondentes aos Experimentos 2 e 6. . . . .	72
FIGURA 18 – Distribuição da Força Nodal Líquida normalizada por neurônio. Os pontos destacados em vermelho representam os 10 neurônios com maior correlação positiva e os pontos em azul os 10 com maior anticorrelação, para os Experimentos 2 e 6. . . . .	74
FIGURA 19 – Magnitude da correlação global em função do tamanho da janela temporal. A linha sólida representa os dados originais e a linha pontilhada os dados embaralhados. As linhas verticais indicam as durações médias dos comportamentos, evidenciando a convergência entre a escala de processamento neuronal e a execução comportamental. . . . .	76
FIGURA 20 – Matrizes de confusão para a classificação de comportamentos utilizando o núcleo de maior correlação positiva (Grupo Vermelho). Os painéis (a)-(d) referem-se à tarefa 3-CH, abrangendo os contextos de Contato Social (CS), Contato Social Futuro (CSF), Contato Não Social (CNS) e Contato Não Social Futuro (CNSF). Os painéis (e)-(f) referem-se à tarefa SIT, distinguindo entre Contato Iniciado pelo Hospedeiro (CIH) e Contato Iniciado pelo Visitante (CIV). O modelo <i>Random Forest</i> foi treinado utilizando como variáveis de entrada exclusivamente os 10 neurônios com maior força nodal líquida positiva, identificados na Figura 18. As matrizes demonstram o desempenho do classificador através da relação entre as classes reais e as previstas, apresentando acurácias elevadas que variam entre 86% e 97%, confirmando a robustez da sincronização positiva na codificação desses estados. . . . .	78

FIGURA 21 – Matrizes de confusão para a classificação de comportamentos utilizando o grupo de maior anticorrelação (Grupo Azul). Os painéis (a)-(d) detalham o desempenho na tarefa 3-CH para os contextos de Contato Social (CS), Contato Social Futuro (CSF), Contato Não Social (CNS) e Contato Não Social Futuro (CNSF). Os painéis (e)-(f) apresentam os resultados para a tarefa SIT, discriminando entre Contato Iniciado pelo Hospedeiro (CIH) e Contato Iniciado pelo Visitante (CIV). O modelo <i>Random Forest</i> utilizou como variáveis de entrada os 10 neurônios com os valores mais negativos de força nodal líquida, conforme identificados na Figura 18. As matrizes correlacionam as classes reais com as previsões do modelo, apresentando acurácias que variam entre 91% e 96%, evidenciando que a dinâmica de oposição de fase possui alto valor preditivo para a decodificação do comportamento social. . . . .	79
FIGURA 22 – Matrizes de correlação para cada comportamento na tarefa 3-CH calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor. . . . .	93
FIGURA 23 – Matrizes de correlação para cada comportamento na tarefa SIT calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor. . . . .	94
FIGURA 24 – Análise de correlação acumulada por neurônio na tarefa 3-CH. . . . .	95
FIGURA 25 – Análise de correlação acumulada por neurônio na tarefa SIT. . . . .	96
FIGURA 26 – Comparação da magnitude da correlação ao longo do tempo (janelas de frames) para dados originais e embaralhados. . . . .	97
FIGURA 27 – Matrizes de confusão para a tarefa 3-CH utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Correlação Positiva. . . . .	98
FIGURA 28 – Matrizes de confusão para a tarefa 3-CH utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Anticorrelação. . . . .	99
FIGURA 29 – Matrizes de confusão para a tarefa SIT utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Correlação Positiva. . . . .	100
FIGURA 30 – Matrizes de confusão para a tarefa SIT utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Anticorrelação. . . . .	101

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Definição das variáveis comportamentais analisadas nas tarefas SIT e 3-CH. . . . .	66
TABELA 2 – Acurácias obtidas nas tarefas 3-CH e SIT utilizando subconjuntos de neurônios com maior correlação e anticorrelação via <i>Random Forest</i> . . . . .	81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-CH	Tarefa de três câmaras (do inglês <i>Three-Chamber Task</i> )
AAVs	Vetores virais adeno-associados (do inglês <i>adeno-associated viruses</i> )
AM	Aprendizado de Máquina
CCA	Córtex Cingulado Anterior
ChAT	Colina Acetiltransferase
CIH	Contato iniciado pelo hospedeiro (do inglês <i>Contact Initiated by Host</i> )
CIV	Contato iniciado pelo visitante (do inglês <i>Contact Initiated by Visitor</i> )
CNS	Contato não social
CNSF	Contato não social futuro
CS	Contato social
CSF	Contato social futuro
DL-PFC	Dorsolaterais
GECIs	Indicadores de cálcio geneticamente codificados (do inglês <i>Genetic-Encoded Calcium Indicators</i> )
GFP	Proteína Verde Fluorescente (do inglês <i>Green Fluorescent Protein</i> )
GPUs	Unidades de Processamento Gráfico (do inglês <i>Graphics Processing Units</i> )
IA	Inteligência Artificial
IL	Infra-Límbico (do inglês <i>Infralimbic</i> )
LLMs	Modelos de Linguagem de Larga Escala (do inglês <i>Large Language Models</i> )
LTD	Depressão de Longa Duração (do inglês <i>Long-Term Depression</i> )
LTP	Potenciação de Longa Duração (do inglês <i>Long-Term Potentiation</i> )
mPFC	Córtex Pré-Frontal medial (do inglês <i>medial Prefrontal Cortex</i> )

OOB	<i>Out-of-Bag</i>
PFC	Córtex Pré-Frontal (do inglês <i>Prefrontal Cortex</i> )
PL	Pré-Límbico (do inglês <i>Prelimbic</i> )
RF	<i>Random Forest</i> (Floresta Aleatória)
SIT	Tarefa de Interação Social (do inglês <i>Social Interaction Task</i> )
SVM	Máquinas de Vetor de Suporte (do inglês <i>Support Vector Machines</i> )
UFPR	Universidade Federal do Paraná
VGCCs	Canais de cálcio dependentes de voltagem (do inglês <i>Voltage-Gated Calcium Channels</i> )
VL-PFC	Ventrolaterais
VTA	Área Tegmentar Ventral (do inglês <i>Ventral Tegmental Area</i> )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
2.1	OBJETIVO GERAL	23
2.1.1	Objetivos Específicos	23
2.1.2	Organização da dissertação	23
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>25</b>
3.1	BASES ESTRUTURAIS E DINÂMICAS DA INFORMAÇÃO NEURAL	25
3.1.1	A Rede Neural como um Sistema Complexo Dinâmico	25
3.1.2	O Neurônio como Unidade de Processamento de Informação	27
3.1.3	O Cérebro Humano e a Translação para o Modelo de Roedor	30
3.1.4	Osciladores, Sincronização e Correlação na Dinâmica Neural	35
3.2	O CONTEXTO BIOLÓGICO DO COMPORTAMENTO SOCIAL E A CODIFICAÇÃO NEURAL	36
3.2.1	O Córtex Pré-Frontal Medial e suas sub-regiões	37
3.2.2	Mecanismos de Codificação Neural do Comportamento	40
3.2.3	O Sistema Colinérgico no Córtex Pré-Frontal Medial	42
3.3	TECNOLOGIAS DE AQUISIÇÃO DE DADOS E MODELOS COMPORTAMENTAIS	46
3.3.1	Imageamento de Cálcio In Vivo	47
3.3.2	A Microendoscopia e o Registro em Livre Movimento	48
3.3.3	Testes Comportamentais de Interação Social em Roedores	51
3.4	O APRENDIZADO DE MÁQUINA NA DECODIFICAÇÃO DE SINAIS NEURAIS	53
3.4.1	A Inteligência Artificial na Ciência de Dados Neurobiológicos	54
3.4.2	O Aprendizado de Máquina na Predição de Comportamento	55
3.4.3	O Algoritmo Floresta Aleatória ( <i>Random Forest</i> )	58
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>62</b>
4.1	SUJEITOS EXPERIMENTAIS E ASPECTOS ÉTICOS	63
4.2	PROTOCOLO CIRÚRGICO E INSTRUMENTAÇÃO ÓPTICA	64
4.3	PARADIGMAS COMPORTAMENTAIS E AQUISIÇÃO DE DADOS	65
4.4	PROCESSAMENTO DE SINAIS DE CÁLCIO E SINCRONIZAÇÃO	66
4.5	ANÁLISE COMPUTACIONAL	67
4.5.1	Matrizes de Correlação	67
4.5.2	Análise Temporal: Magnitude de Correlação	68

4.5.3	Classificação via <i>Random Forest</i> (RF) . . . . .	69
4.5.4	Análise Estatística e Comparativa . . . . .	69
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> . . . . .	<b>71</b>
5.1	TOPOLOGIA DAS CORRELAÇÕES NEURONAIS . . . . .	71
5.2	DINÂMICA TEMPORAL E ESTRUTURA DE INTERDEPENDÊNCIA	75
5.3	DECODIFICAÇÃO DE ESTADOS VIA <i>RANDOM FOREST</i> . . . . .	77
5.3.1	Validação Estatística e Significância . . . . .	81
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> . . . . .	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	<b>85</b>
	<b>APÊNDICE A – ANÁLISES COMPLEMENTARES</b> . . . . .	<b>92</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A compreensão dos mecanismos pelos quais redes neuronais orquestram comportamentos complexos permanece como uma das fronteiras mais desafiadoras da ciência contemporânea. O cérebro não opera como um conjunto de unidades isoladas, mas sim como um sistema dinâmico onde a informação é distribuída e processada coletivamente por grandes populações de células. Nesse contexto, o comportamento social emerge como uma função biológica crítica para a sobrevivência e adaptação das espécies, exigindo do sistema nervoso uma capacidade refinada de integrar estímulos sensoriais, memórias prévias e estados motivacionais em tempo real.

O substrato anatômico central para essa regulação executiva é o Córtex Pré-Frontal (PFC, do inglês *Prefrontal Cortex*). Esta região cerebral desempenha um papel fundamental na modulação das interações sociais, permitindo que o organismo distinga entre estímulos familiares e novos, e ajuste suas respostas de acordo com a hierarquia e o contexto do grupo. Conforme revisado por Ko, o Córtex Pré-Frontal medial (mPFC, do inglês *medial Prefrontal Cortex*) de roedores e suas projeções para estruturas sub-corticais formam o substrato anatômico crucial para o processamento de informações sociais, sendo homólogo funcional às regiões que governam a cognição social em primatas e humanos (Ko, 2017). A integridade desses circuitos é essencial, e disfunções nessa área impactam diretamente o processamento cognitivo, a autorregulação emocional e a complexidade do comportamento social (Mohapatra; Wagner, 2023).

A motivação para investigar a dinâmica desses circuitos reside na sua complexidade e vulnerabilidade. Bicks et al. argumentam que alterações no equilíbrio entre excitação e inibição nos circuitos pré-frontais, especialmente durante janelas críticas do desenvolvimento, constituem um mecanismo patofisiológico central em diversas condições psiquiátricas (Bicks *et al.*, 2015). Além disso, a manifestação desses déficits não é estática; estudos em modelos genéticos de disfunção dopaminérgica demonstram que os prejuízos na interação social evoluem dinamicamente ao longo da vida, exigindo métodos de avaliação sensíveis o suficiente para capturar nuances comportamentais em diferentes estágios do desenvolvimento (Kabitzke *et al.*, 2015).

Adicionalmente, a codificação neural dessas interações revela-se multimodal e flexível. Pesquisas recentes indicam que neurônios específicos no Córtex Pré-Límbico (PL, do inglês *Prelimbic Cortex*) codificam uma conjunção de informações sociais e espaciais, ligando a presença de um co-específico ao local da interação (Murugan *et al.*, 2017), e são necessários para a tomada de decisões flexíveis durante a comunicação social, permitindo ajustes comportamentais em tempo real baseados na motivação do animal (Chabout *et al.*, 2013). Investigar essa dinâmica em condições fisiológicas

normais impõe, contudo, barreiras metodológicas significativas. A complexidade do código neural que sustenta a sociabilidade não pode ser plenamente capturada por técnicas que monitoram apenas neurônios individuais.

O avanço recente das neurotecnologias permitiu superar essas limitações através do desenvolvimento da microscopia de fluorescência em miniatura. O uso de miniscópios acoplados a indicadores de cálcio geneticamente codificados possibilitou, pela primeira vez, o registro da atividade simultânea de centenas de neurônios em animais em livre movimento, preservando a validade etológica necessária para o estudo do comportamento social (Aharoni; Hoogland, 2019). Essa revolução na aquisição de dados trouxe consigo um novo desafio: o volume e a complexidade das informações geradas. As gravações de imageamento de cálcio produzem séries temporais de alta dimensionalidade que tornam a análise manual insuficiente.

Para extrair padrões biológicos significativos desse ruído aparente, a neurociência tem convergido com a ciência da computação e a física de sistemas complexos. Um conceito fundamental nessa interface é o de sincronização, que descreve como osciladores individuais ajustam seus ritmos através de interações, emergindo em estados de coerência temporal que facilitam a comunicação entre circuitos distantes. Contudo, a premissa de que apenas a sincronização massiva sustenta o código neural pode ser incompleta. Este trabalho propõe que a segregação funcional, representada por padrões de anticorrelação e oposição de fase, desempenha um papel igualmente vital na estruturação de contrastes informacionais dentro da rede.

Nesse cenário interdisciplinar, a adoção de ferramentas de Aprendizado de Máquina (Machine Learning) torna-se essencial para decodificar tais sinais. Algoritmos robustos, como os disponibilizados na biblioteca Scikit-learn, permitem implementar modelos capazes de identificar padrões de sincronia e realizar previsões comportamentais com alta precisão (Pedregosa *et al.*, 2011). Esta dissertação integra a neurobiologia experimental e a física computacional, investigando se a atividade de populações de neurônios excitatórios no PFC contém informações suficientes para classificar, de maneira autônoma, o estado comportamental de camundongos.

A originalidade desta abordagem reside na aplicação de métricas de Força Nodal Líquida para segregar a rede em subconjuntos funcionais baseados na polaridade de suas interações. Adicionalmente, investiga-se a convergência entre as escalas temporais da rede neuronal e as transições comportamentais do animal, validando se o mPFC processa informações na mesma escala de tempo das interações sociais observadas.

Portanto, o objetivo primordial deste estudo é estabelecer e validar um protocolo analítico computacional capaz de classificar estados comportamentais a partir da atividade de rede. Ao demonstrar a viabilidade de prever o comportamento social

baseando-se na atividade de cálcio e na topologia de correlações, este trabalho busca fornecer uma ferramenta quantitativa e imparcial para a investigação de circuitos neurais.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo central deste trabalho é estabelecer e validar um protocolo analítico computacional capaz de classificar estados comportamentais sociais e não sociais a partir da dinâmica de populações neuronais no PFC. Busca-se investigar se a topologia das interações na rede, definida por padrões de sincronização e segregação funcional, contém informações suficientes para a decodificação autônoma do comportamento em animais em livre movimento.

#### 2.1.1 Objetivos Específicos

- Mapear a topologia funcional da rede neuronal no PFC durante tarefas de interação social, utilizando a métrica de Força Nodal Líquida para identificar subconjuntos de neurônios baseados na polaridade de suas interações (correlação positiva e anticorrelação);
- Avaliar a eficácia de modelos de Aprendizado de Máquina, especificamente o algoritmo Random Forest, na predição de estados comportamentais a partir dos traços de atividade de cálcio processados;
- Investigar a convergência de escalas temporais, analisando se a escala de processamento de informação da rede neuronal é isomórfica à escala das transições comportamentais observadas no animal;
- Comparar o poder preditivo de diferentes grupos funcionais, validando estatisticamente se a segregação funcional (anticorrelação) fornece contrastes informacionais superiores à sincronização massiva para a tarefa de classificação;
- Contribuir para a neurociência de sistemas ao fornecer uma ferramenta quantitativa e imparcial para a investigação de circuitos neurais envolvidos em comportamentos complexos e suas potenciais disfunções.

#### 2.1.2 Organização da dissertação

Esta dissertação está estruturada da seguinte forma:

- O Capítulo 3 (Fundamentação Teórica) estabelece as bases da neurociência de sistemas, a física de sistemas complexos e os princípios do imageamento de cálcio e do aprendizado de máquina;

- O Capítulo 4 (Metodologia) detalha os sujeitos experimentais, os paradigmas comportamentais (SIT e 3-CH), o processamento de sinais via MIN1PIPE e as rotinas computacionais desenvolvidas em Python;
- O Capítulo 5 (Resultados e Discussão) apresenta a análise da topologia das correlações, a dinâmica temporal do sistema e o desempenho do classificador Random Forest, discutindo o papel das anticorrelações na codificação neural;
- O Capítulo 6 (Conclusão) sintetiza as principais descobertas, valida a abordagem interdisciplinar proposta e sugere direções para investigações futuras integrando manipulações neuromodulatórias.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 BASES ESTRUTURAIS E DINÂMICAS DA INFORMAÇÃO NEURAL

O comportamento, seja ele simples ou complexo, é o produto final da atividade de uma rede neuronal que opera em múltiplas escalas, desde o nível molecular até a integração de circuitos globais. Compreender a decodificação da informação comportamental no cérebro exige que esta rede seja abordada, primeiramente, sob a perspectiva da Neurociência de Sistemas, reconhecendo-a como um sistema inerentemente complexo. Esta seção estabelece a estrutura teórica para o estudo da informação neural, iniciando-se pela natureza caótica e não linear da rede neuronal. Em seguida, o foco se restringe ao elemento fundamental de processamento, o neurônio, e os mecanismos eletrofisiológicos que governam a sinalização. Adicionalmente, explora-se a descrição física desses elementos como osciladores não lineares, cujas propriedades de sincronização, travamento de fase e correlação estatística formam a base dinâmica para a integração de sinais em larga escala. Por fim, a seção justifica a validade da transposição desses princípios biológicos e dinâmicos para o modelo de roedor, crucial para a viabilidade experimental do estudo da cognição social.

##### 3.1.1 A Rede Neural como um Sistema Complexo Dinâmico

Quando Isaac Newton publicou o *Philosophiae Naturalis Principia Mathematica* em 1687, ele formulou as leis da gravitação universal, responsáveis por descrever os movimentos dos corpos celestes no espaço conhecendo suas posições e velocidades iniciais. E, de fato, o movimento de dois corpos como a Terra e o Sol é perfeitamente descrito pela matemática newtoniana.

Porém, ao adicionar um terceiro corpo à equação, o grau de complexidade aumenta de tal modo que, embora a resolução numérica seja viável, a obtenção de uma solução algébrica geral torna-se impossível. O chamado problema dos três corpos mostra que, mesmo sendo governado por leis físicas determinísticas, o sistema gravitacional resultante pode apresentar comportamento caótico e imprevisível. Foi somente no final do século XIX que Henri Poincaré, ao estudar esse problema, demonstrou a inexistência de uma solução algébrica geral e a instabilidade intrínseca dessas órbitas. Sua descoberta de que pequenas variações nas condições iniciais podem divergir exponencialmente, fenômeno hoje conhecido como sensibilidade às condições iniciais, estabeleceu os limites da previsibilidade a longo prazo em sistemas determinísticos. Esse marco científico revelou que a complexidade dinâmica pode emergir de interações não lineares simples, posicionando sistemas dessa natureza no limiar entre a ordem e

o caos.

Por definição, são sistemas compostos por um grande número de elementos que interagem de forma não linear. O comportamento coletivo desses sistemas, aliado à troca de informação e energia com o ambiente, permite a modificação de sua estrutura interna e de seus padrões de atividade (Kwapień; Drozd, 2012). Uma característica importante dos sistemas complexos é a ocorrência de fenômenos imprevisíveis, mesmo quando se conhece sua estrutura e as interações entre os elementos individuais.

O conceito de sistemas complexos é fundamental para a compreensão de fenômenos em diversos domínios, desde o biológico até o físico (Balasis *et al.*, 2023; Boers *et al.*, 2021). No campo ambiental e geofísico, o sistema climático da Terra se destaca como um exemplo paradigmático. Sua complexidade não deriva apenas do grande número de seus componentes, como a atmosfera, os oceanos e a biosfera, mas também das ricas interações entre eles, que operam em múltiplas escalas de tempo e espaço. Essas conexões são não lineares e caóticas, o que significa que pequenas perturbações podem se ampliar e gerar consequências em larga escala, limitando a previsibilidade de longo prazo e tornando ineficaz a tentativa de estudá-lo apenas pela análise de suas partes isoladas (Gupta *et al.*, 2022).

Essa mesma lógica se estende aos domínios econômico, social e tecnológico. Os mercados financeiros, por exemplo, são sistemas adaptativos onde interações não lineares geram fenômenos emergentes que exibem comportamentos coletivos, como as bolhas especulativas e as quebras de mercado, que não podem ser previstas apenas pela análise das decisões de investidores individuais (Kwapień; Drozd, 2012). De forma semelhante, estruturas sociais, dinâmicas populacionais e a internet demonstram essa característica, sendo sistemas onde uma ordem macroscópica surge espontaneamente a partir da interação aleatória de muitos elementos em um nível microscópico.

No campo da biologia, o cérebro humano se destaca como um exemplo arquetípico de sistema complexo. Sua complexidade é evidente tanto pelo número elevado de neurônios e suas interconexões quanto por suas notáveis habilidades funcionais e adaptativas. Essa estrutura complexa, cuja representação digital pode ser vista na Figura 1 (G1, 2025), manifesta-se em múltiplos níveis de organização, desde o nível das interações moleculares e dos neurônios individuais, até a dinâmica de redes neurais. O cérebro opera em um estado metaestável, no qual não está nem totalmente sincronizado nem totalmente dessincronizado; alguns neurônios se engajam em oscilações coletivas enquanto outros mantêm atividades individuais, o que garante a flexibilidade para se adaptar sem se tornar completamente instável (Kwapień; Drozd, 2012). Nesse contexto, as ferramentas de análise de sistemas dinâmicos oferecem meios para estudar a estrutura e a dinâmica das interações dos neurônios em várias escalas, permitindo compreender de que forma a interação local dá origem a propriedades

globais emergentes.

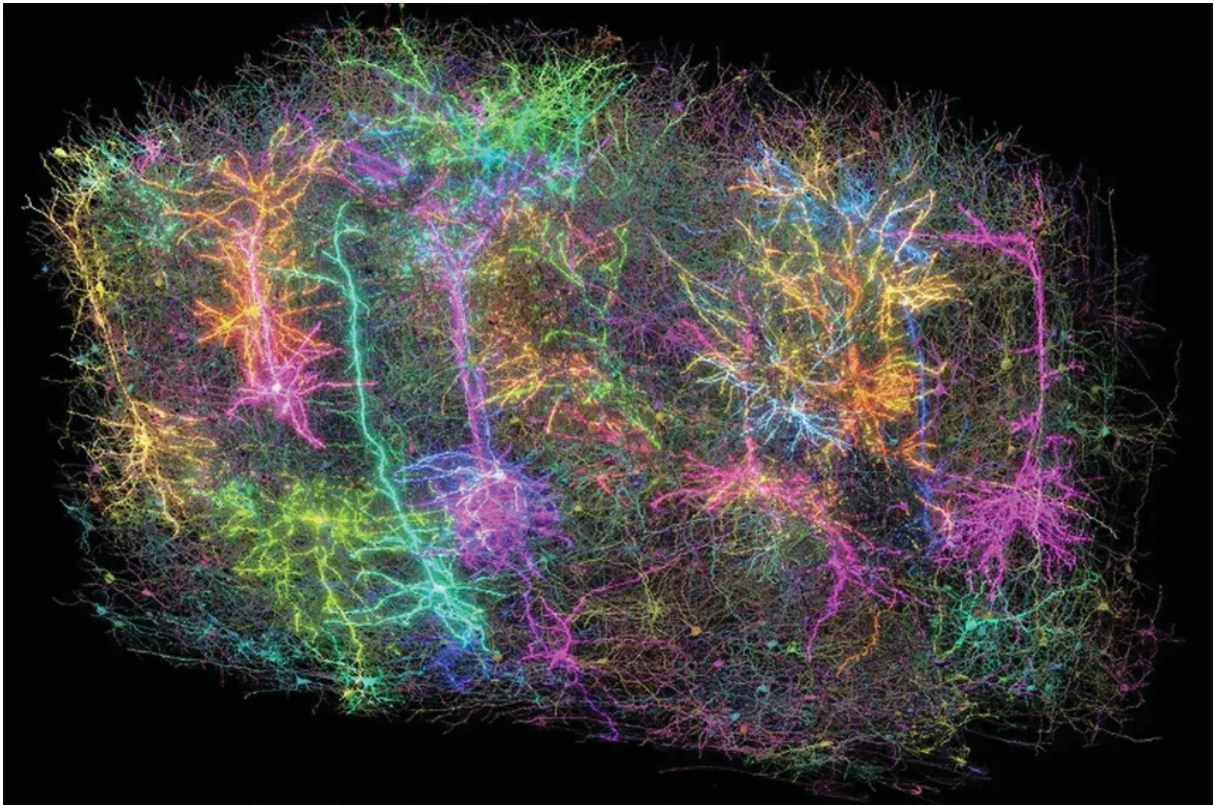


FIGURA 1 – Representação digital de um circuito de neurônios criado por cientistas.  
FONTE: Instituto Allen (foto); (G1, 2025).

O estudo do sistema nervoso, portanto, não pode se restringir à análise isolada de seus componentes, mas deve abordar a rede neuronal como uma totalidade dinâmica, onde a decodificação do comportamento complexo exige ferramentas capazes de lidar com a não-linearidade e a alta dimensionalidade dos dados. Essa perspectiva é a base conceitual que sustenta a metodologia do presente trabalho e nos leva a analisar o elemento fundamental dessa rede: o neurônio.

### 3.1.2 O Neurônio como Unidade de Processamento de Informação

A capacidade do sistema nervoso de gerar respostas complexas e processar a vasta gama de informações sensoriais é fundamentada na atividade de seus componentes celulares: os neurônios. Estimativas sugerem que o cérebro humano contém, em média, cerca de 86 bilhões dessas células especializadas, responsáveis por receber, conduzir e transmitir sinais elétricos com notável precisão e velocidade. Tais funções permitem ao sistema nervoso sentir o ambiente, processar as mudanças detectadas e orquestrar as respostas adaptativas do organismo (Bear, 2017).

A estrutura morfológica do neurônio é intrinsecamente ligada à sua função de comunicação. Cada neurônio é composto por três elementos essenciais: o corpo celular (ou soma), os dendritos e o axônio, conforme ilustrado na Figura 2. O corpo

celular contém o núcleo e abriga o maquinário sintético e genético necessário para a manutenção e funcionalidade da célula. É o centro metabólico onde os sinais de entrada são integrados.

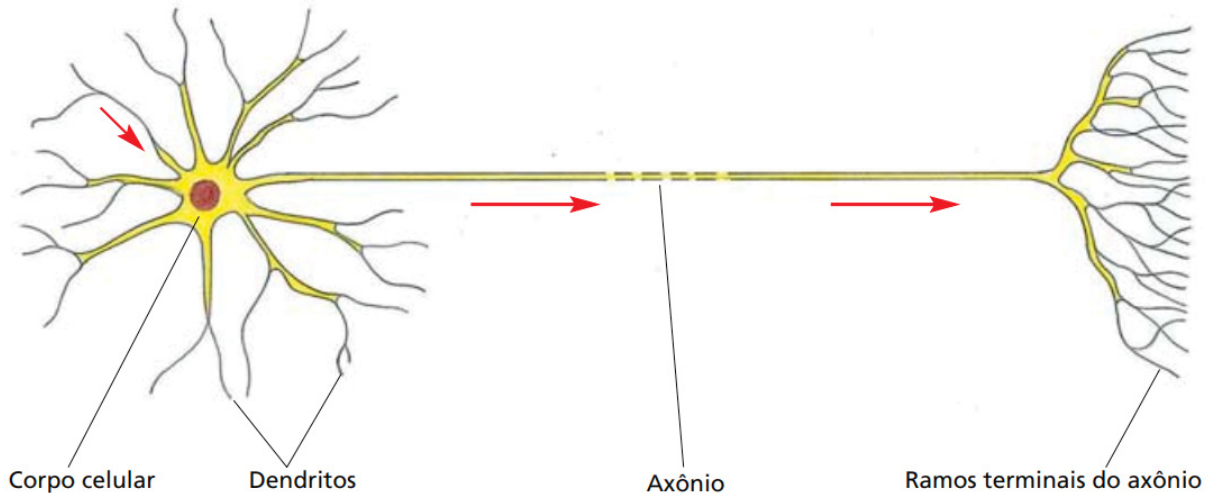


FIGURA 2 – Ilustração de um neurônio e suas partes. Os dendritos recebem os sinais, transmitem para o corpo celular e para o axônio, que repassa para outros neurônios. FONTE: (Alberts, 2017).

Os dendritos são prolongamentos ramificados que se propagam a partir do corpo celular e funcionam primariamente como as antenas receptoras do neurônio. Sua extensa arborização proporciona uma vasta área de superfície, permitindo que a célula receba uma multiplicidade de sinais sinápticos provenientes de milhares de outros neurônios. A informação integrada no corpo celular é, então, transmitida através do axônio, um prolongamento longo e fino cuja função primordial é a condução de sinais a longas distâncias, alcançando seus alvos (outros neurônios ou células efetoras) em regiões distantes do sistema nervoso. A transmissão de sinais entre neurônios ocorre nas sinapses, pontos de contato especializados onde a informação é transferida quimicamente ou eletricamente (Kandel *et al.*, 2014).

A propagação de informação ao longo do axônio e, conseqüentemente, através das redes neurais, é mediada por mudanças no potencial elétrico da membrana plasmática. Essas mudanças culminam no Potencial de Ação, também referido como impulso nervoso, que constitui o sinal elétrico fundamental do neurônio. Ele é um fenômeno de natureza "tudo-ou-nada": ele é gerado apenas se um estímulo elétrico atingir um determinado limiar de excitação e, uma vez desencadeado, sua intensidade e propagação não diminuem ao longo da distância, sendo mantido por um mecanismo de amplificação automática ao longo do axônio (Bear, 2017).

O Potencial de Ação representa uma onda de excitação elétrica que percorre a membrana plasmática em um processo que dura aproximadamente 2 milissegundos. Este evento elétrico, demonstrado na Figura 3, pode ser dividido em três fases principais:

a despolarização ascendente, a repolarização e a hiperpolarização (ou fase refratária).

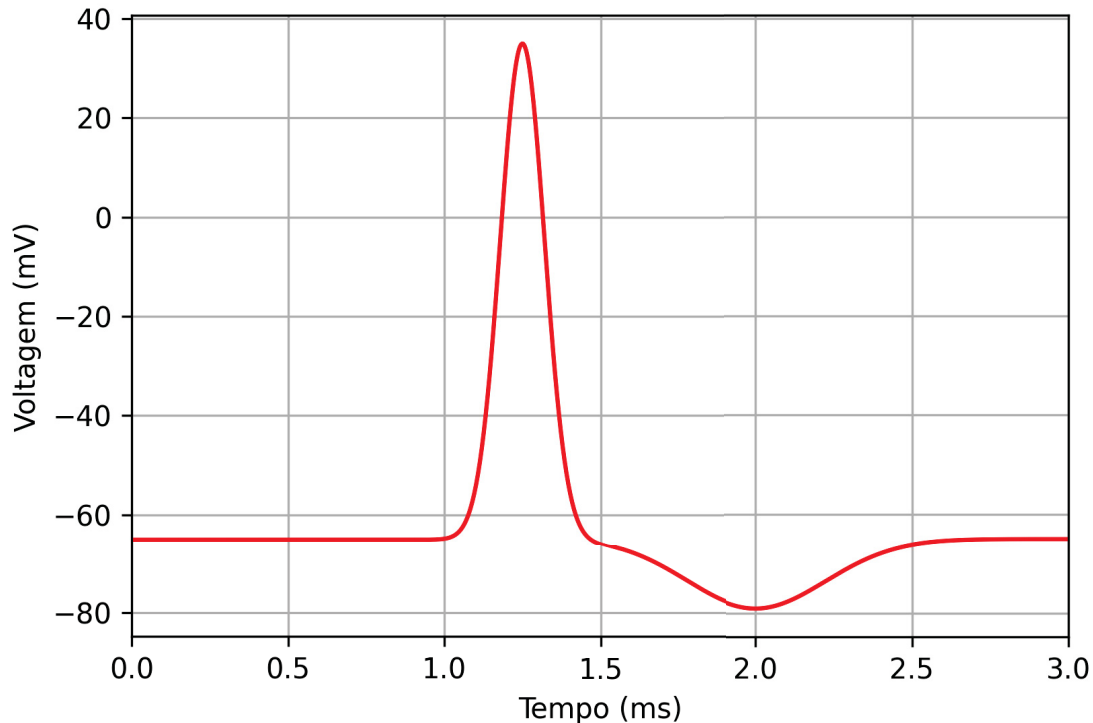


FIGURA 3 – Ilustração do Potencial de ação da membrana ao longo do tempo. Ao receber um limiar de força suficiente para que ocorra a troca de íons, o potencial aumenta de forma instantânea, cai e depois retorna ao seu estado normal.

A geração e a propagação do Potencial de Ação dependem da atividade de canais iônicos controlados por voltagem, proteínas transmembrana que são sensíveis às alterações no potencial elétrico da membrana. O estado de repouso do neurônio, mantido em torno de  $-65\text{ mV}$ , é regido principalmente por canais de vazamento de potássio ( $K^+$ ) e pela bomba de sódio-potássio (Alberts, 2017).

O ciclo do Potencial de Ação é estritamente regulado pelos canais de cátions de sódio ( $Na^+$ ) e potássio ( $K^+$ ) controlados por voltagem:

- **Despolarização:** Ao atingir o limiar, os canais de ( $Na^+$ ) controlados por voltagem se abrem subitamente, permitindo um rápido influxo de íons sódio para dentro do citosol. Este movimento iônico inverte drasticamente o potencial de membrana, levando-o a valores positivos (cerca de  $+40\text{ mV}$ ), o que é denominado de despolarização.
- **Repolarização e Hiperpolarização:** Imediatamente após a abertura dos canais de ( $Na^+$ ), os canais de ( $K^+$ ) controlados por voltagem se abrem mais lentamente. O efluxo de ( $K^+$ ) para fora da célula restaura rapidamente o potencial negativo da membrana (repolarização). Em seguida, os canais de ( $K^+$ ) podem permanecer

abertos por um breve período, causando uma breve queda abaixo do potencial de repouso (hiperpolarização), garantindo o período refratário que impede o disparo imediato de um novo Potencial de Ação.

Para o presente estudo, a importância do Potencial de Ação se estende à compreensão de como a atividade neural é registrada. Embora o Potencial de Ação seja um fenômeno elétrico, a sua ocorrência está intrinsecamente ligada à dinâmica do cálcio ( $Ca^{2+}$ ) intracelular.

A despolarização da membrana (durante ou logo após o Potencial de Ação) desencadeia a abertura de canais de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) controlados por voltagem, localizados tanto na membrana plasmática quanto nas terminações axônicas. O influxo de  $Ca^{2+}$  atua como um mensageiro intracelular crítico, sendo o gatilho para a liberação de neurotransmissores na sinapse e, mais genericamente, servindo como um proxy para avaliar a ocorrência do disparo neural. As técnicas de imageamento de cálcio exploram precisamente esse fenômeno: o aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  no citosol é detectado pelo indicador fluorescente, permitindo aos pesquisadores registrar a atividade de populações neuronais em tempo real. Portanto, a análise dos traços de cálcio é uma medida indireta, mas robusta, da frequência e da sintonia dos Potenciais de Ação, a linguagem fundamental do cérebro (Kandel *et al.*, 2014).

### 3.1.3 O Cérebro Humano e a Translação para o Modelo de Roedor

A investigação neurocientífica dos substratos neurais do comportamento social e das funções cognitivas superiores impõe um desafio metodológico fundamental: a necessidade de conciliar a complexidade fenomenológica da mente humana com a exigência de rigor experimental biológico. Embora a complexidade do encéfalo humano seja inegável, a validade da pesquisa translacional em modelos animais é solidamente sustentada pelo princípio da conservação evolutiva. Como enfatizam Alberts *et al.*, os mecanismos moleculares e celulares que regem a vida foram preservados ao longo de bilhões de anos de seleção natural. Essa continuidade biológica permite que descobertas realizadas em organismos-modelo, como camundongos e ratos, forneçam não apenas análogos, mas insights mecanicistas diretos sobre a fisiologia humana (Alberts, 2017).

O sistema nervoso humano distingue-se por uma vasta capacidade de processamento hierárquico, culminando nas chamadas funções executivas. Esse conjunto de habilidades cognitivas é essencial para a adaptação em ambientes dinâmicos e imprevisíveis, abrangendo o planejamento estratégico, o raciocínio flexível, a memória de trabalho e, criticamente, a regulação da atenção e do controle inibitório. A cognição social, definida como a capacidade de processar informações sobre outros indivíduos

para guiar interações, depende intrinsecamente da integridade dessas redes executivas, com destaque para o Córtex Pré-Frontal. Entretanto, a investigação desses circuitos em humanos é limitada a técnicas não invasivas ou análises *post-mortem*, o que dificulta a observação da dinâmica neural em tempo real e em nível celular (Bear, 2017).

Diante dessas limitações, a neurociência recorre à homologia biológica. O sistema nervoso não se desenvolve de forma aleatória, mas sob restrições genéticas e epigenéticas estritas que garantem a manutenção de funções vitais através das espécies. A unidade básica de processamento, o neurônio, assim como a glia e os mecanismos eletroquímicos de transmissão sináptica, são universais em suas propriedades biofísicas. Essa universalidade justifica a extrapolação de descobertas fundamentais: um potencial de ação ou uma depressão sináptica no córtex de um roedor opera sob as mesmas leis iônicas que no córtex de um primata (Lent, 2010).

A validade do modelo de roedor para o estudo específico do PFC e do comportamento social reside na conservação da arquitetura de circuitos. Apesar das diferenças macroscópicas evidentes, como a lisencefalia (ausência de giros) e o volume reduzido do telencéfalo destes animais, a organização fundamental das redes neuronais é preservada. Uma distinção anatômica frequentemente citada é que o PFC do roedor é classificado como “agranular”, devido à ausência de uma Camada IV granular densa, característica dos primatas. No entanto, essa diferença não implica ausência de função homóloga. O critério para a homologia do PFC é a conectividade: assim como em humanos, essa região no roedor é caracterizada por suas conexões recíprocas com o núcleo mediodorsal do tálamo (Faure *et al.*, 2017).

A Figura 4 ilustra essa anatomia comparada, estabelecendo as correspondências funcionais que guiam a pesquisa translacional (Gass; Chandler, 2013). As regiões do Córtex Pré-Límbico (PL - *Prelimbic Cortex*) e do Córtex Infra-Límbico (IL - *Infralimbic Cortex*) nos roedores são consideradas análogas funcionais ao Córtex Pré-Frontal medial humano.

Essa homologia transcende a localização anatômica e aprofunda-se na neuroquímica e na microarquitetura dos circuitos locais. O mPFC do roedor é densamente inervado pelas mesmas projeções neuromoduladoras que o cérebro humano: vias dopaminérgicas da Área Tegmentar Ventral (VTA, do inglês *Ventral Tegmental Area*) e vias colinérgicas do Prosencéfalo Basal. Conforme ilustrado na Figura 5, essas vias originam-se no mesencéfalo e projetam-se difusamente para o córtex frontal, formando um circuito conservado essencial para a atribuição de valência motivacional e regulação da atenção (Avalé *et al.*, 2011). De fato, estudos comportamentais demonstram consistentemente que lesões ou manipulações no mPFC murino (relativo a ratos e camundongos) resultam em déficits de flexibilidade cognitiva e controle inibitório semelhantes aos observados em pacientes humanos com danos frontais.

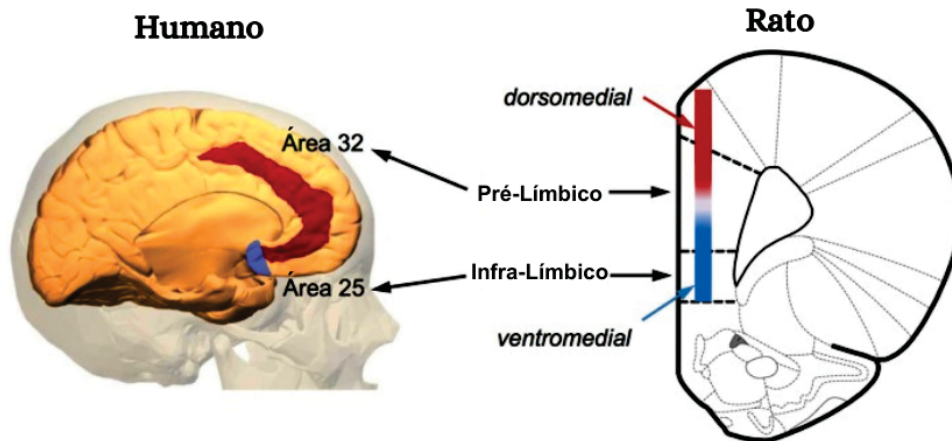


FIGURA 4 – Homologia Estrutural e Funcional do Córtex Pré-Frontal Medial (mPFC) em Humanos e Roedores. O diagrama demonstra a correspondência das sub-regiões Pré-Límbico (PL) e Infra-Límbico (IL) do PFC medial do rato (modelo funcionalmente análogo ao camundongo) com suas regiões equivalentes no cérebro humano. A região PL é aproximadamente análoga à área de Brodmann 32, e a IL, à área 25, com base na conectividade talâmica. A figura também ilustra a divisão simplificada do PFC medial do roedor em regiões dorsomedial e ventromedial. FONTE: Adaptado de (Gass; Chandler, 2013).

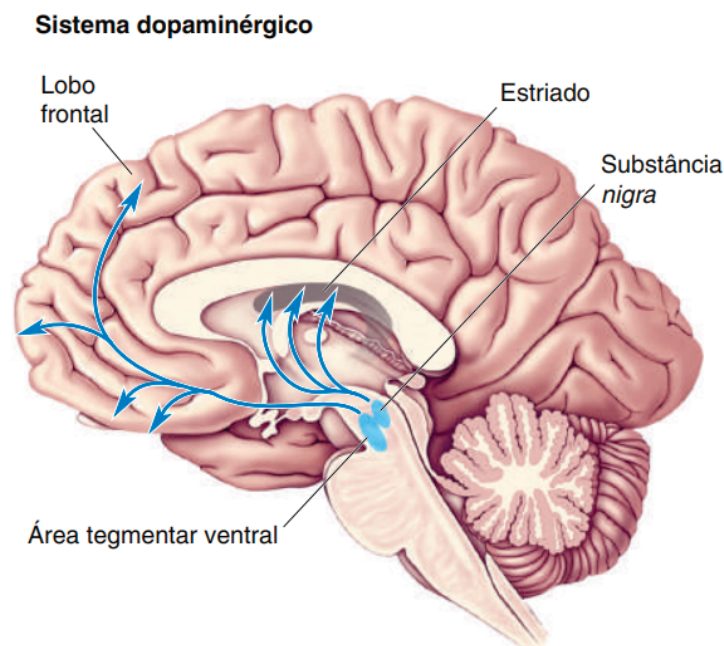


FIGURA 5 – Sistemas Moduladores Difusos com Projeção para o PFC. Representação esquemática das vias dopaminérgicas mesocorticolímbicas. O diagrama destaca a origem das projeções na Área Tegmentar Ventral (VTA) e sua inervação difusa no córtex frontal, um circuito conservado evolutivamente e essencial para a atribuição de valência motivacional em interações sociais. FONTE: Adaptado de (Bear, 2017).

Um aspecto crítico da funcionalidade do mPFC, preservado entre as espécies, é o delicado equilíbrio entre Excitação e Inibição. O processamento de informações sociais requer uma sintonia fina entre a atividade dos neurônios piramidais (excitatórios, glutamatérgicos) e a regulação imposta pelos interneurônios (inibitórios, GABAérgicos),

especialmente aqueles que expressam parvalbumina. Esse balanço é um princípio organizacional fundamental para a refinação do sinal neural e para a prevenção de atividades aberrantes. A perturbação dessa microarquitetura inibitória no mPFC de roedores é suficiente para induzir comportamentos de retraimento social, mimetizando fenótipos observados em transtornos do espectro autista e na esquizofrenia (Bear, 2017).

Além da arquitetura, a transição para o modelo murino permite decompor a complexidade da cognição social em algoritmos fundamentais de tomada de decisão. Embora os canais sensoriais primários sejam diferentes, já que humanos priorizam a visão e roedores dependem fortemente de pistas olfativas e táteis, a computação de valência realizada pelo mPFC é análoga. O Córtex Pré-Frontal atua como um centro integrador que recebe essas informações sensoriais multimodais e as converte em um valor motivacional comum, guiando a decisão de aproximação (interação) ou esquiva (defesa). Essa convergência funcional sugere que os circuitos neurais que governam a sociabilidade foram selecionados muito cedo na evolução dos mamíferos, constituindo um núcleo biológico conservado (Faure *et al.*, 2017).

O modelo de roedor oferece ainda a oportunidade única de validar a teoria dos *ensembles neurais* (ou assembleias de Hebb) em um contexto de comportamento livre. A hipótese central da neurociência moderna é que memórias e comportamentos complexos não são codificados por células isoladas, mas pela atividade emergente e coordenada de populações neuronais (Lent, 2010). O acesso direto a essas populações no mPFC do roedor, possibilitado por tecnologias modernas, permite registrar como padrões espaciais e temporais específicos emergem dinamicamente durante a interação social. Esses dados de alta dimensão são essenciais para que algoritmos de Aprendizado de Máquina possam, subsequentemente, decodificar e prever estados comportamentais com precisão matemática.

A escolha do roedor (seja o rato ou o camundongo) como modelo experimental é, portanto, justificada pela interseção entre homologia funcional e viabilidade técnica. Roedores exibem um repertório rico de comportamentos sociais inatos e quantificáveis, como a exploração ativa de um indivíduo co-específico, a agressão e o acasalamento, que são cruciais para a análise de circuitos neurais sob condições de interação dinâmica (Faure *et al.*, 2017; Lhopitalier *et al.*, 2022).

O avanço das técnicas de neurociência, particularmente o imageamento de cálcio *in vivo* através de microendoscopia, solidificou o roedor como o modelo de escolha para esse tipo de investigação (Aharoni; Hoogland, 2019). Essa tecnologia permite o registro da atividade de centenas de neurônios do PFC de um animal em movimento livre enquanto ele engaja em interações sociais, algo atualmente impossível de realizar com a mesma resolução em humanos. Em suma, o uso do modelo do roedor

possibilita:

1. **Manipulação Genética e Farmacológica:** A criação de modelos genéticos que simulam disfunções humanas (como modelos transgênicos para o autismo ou esquizofrenia) e a aplicação precisa de fármacos ou ferramentas optogenéticas diretamente nas vias do PFC para testar causalidade.
2. **Registro de Codificação Comportamental:** A identificação de conjuntos neurais no mPFC que codificam seletivamente a exploração social, distinguindo-a estatisticamente de outras formas de exploração ambiental ou mera atividade locomotora (Liang *et al.*, 2018).
3. **Análise de Correlações Intercerebrais:** A análise da correlação da atividade neural entre os cérebros de dois indivíduos interagentes no PFC, um fenômeno recentemente demonstrado em camundongos que se correlaciona com a coordenação de decisões e a hierarquia de dominância estabelecida (Kingsbury *et al.*, 2019).
4. **Viabilidade em Escala:** A possibilidade de realizar experimentos com grupos de animais de forma eficiente e controlada, gerando o grande volume de dados necessários para a aplicação de métodos avançados de Aprendizado de Máquina.

É importante ressaltar que, apesar de ser um córtex agranular, a organização laminar do neocórtex do roedor segue o mesmo princípio canônico de camadas de processamento observado em primatas, o que é um testemunho da conservação evolutiva do “hardware” neural. As conexões verticais (colunares) e as interações horizontais entre as Camadas II/III (supragranulares, principais alvos de conexões córtico-corticais) e as Camadas V/VI (infragranulares, principais vias de saída para estruturas subcorticais) são preservadas. O estudo da dinâmica neural através dessas camadas, facilitado no modelo murino, permite inferir como a informação social é processada localmente antes de ser transmitida para centros executores motores ou límbicos.

Adicionalmente, a investigação no modelo murino é validada pela uniformidade dos processos de neuroplasticidade. Mecanismos celulares como a Potenciação de Longa Duração (LTP, do inglês *Long-Term Potentiation*) e a Depressão de Longa Duração (LTD, do inglês *Long-Term Depression*), amplamente aceitos como as bases sinápticas da memória e do aprendizado, operam de maneira praticamente idêntica nas sinapses do PFC de roedores e de primatas. A capacidade de modular essas formas de plasticidade em roedores é crucial para entender como a rede neuronal se adapta a novas regras sociais e codifica a familiaridade ou a novidade de um co-específico.

Por fim, o modelo murino oferece um alto potencial de translação na neurofarmacologia. O rápido ciclo de vida e a capacidade de testar compostos *in vivo* de forma controlada tornam os roedores essenciais para a investigação de vias moleculares ligadas a disfunções do PFC. A identificação de alvos farmacológicos nos circuitos de roedores que sejam capazes de corrigir déficits de interação social pode representar um passo fundamental para o desenvolvimento de tratamentos para transtornos neuropsiquiátricos complexos em humanos.

Portanto, a transição para o modelo de roedor é uma decisão metodológica e biológica profundamente fundamentada na conservação das funções do PFC em mamíferos. Ela oferece a janela experimental necessária para desvendar os mecanismos de codificação social no nível do circuito neuronal, fornecendo insights essenciais para a compreensão das bases biológicas do comportamento social e suas disfunções.

#### 3.1.4 Osciladores, Sincronização e Correlação na Dinâmica Neural

A descrição da atividade cerebral sob a ótica da física de sistemas complexos fundamenta-se na representação de unidades excitáveis como osciladores não lineares. No âmbito da neurofísica, o neurônio é modelado como um sistema dissipativo que exhibe um ciclo de limite estável no espaço de fase, onde a periodicidade dos disparos decorre de uma bifurcação no equilíbrio do sistema (Izhikevich, 2007). Diferente de osciladores conservativos, esses osciladores auto-sustentados possuem uma amplitude fixa determinada pelos parâmetros internos do sistema, tornando a fase a variável dinâmica primária para a análise de interações em rede.

O conceito de sincronização em sistemas biológicos define-se como o ajuste de ritmos de osciladores acoplados por meio de uma interação fraca ou forte (Pikovsky *et al.*, 2002). Para que a sincronização ocorra, as frequências naturais dos osciladores individuais devem convergir para uma frequência de grupo comum, ou manter uma relação de travamento de fase. Matematicamente, esse fenômeno é descrito pela evolução temporal da diferença de fase entre dois osciladores, onde a estabilidade de um estado sincronizado depende tanto da força de acoplamento quanto da dispersão das frequências intrínsecas da rede.

Em populações neuronais extensas, a dinâmica coletiva pode ser analisada através do modelo de Kuramoto, que reduz a descrição do sistema à evolução das fases individuais em um campo médio. A transição para a sincronia global é caracterizada por um parâmetro de ordem que mede a coerência da rede; abaixo de um acoplamento crítico, os osciladores permanecem em um estado incoerente, enquanto acima desse limiar, surge um agrupamento macroscópico. Esse regime de sincronização é essencial para a formação de ritmos cerebrais e para a integração de sinais em diferentes escalas temporais (Strogatz, 2018).

A correlação estatística atua como uma métrica de dependência linear que permite quantificar o grau de co-variação entre as séries temporais desses osciladores. Embora a sincronização física implique correlação, o inverso não é necessariamente verdadeiro, visto que correlações podem emergir de entradas comuns externas sem que haja acoplamento direto entre as unidades. No contexto de sinais de cálcio in vivo, a análise de correlação cruzada é utilizada para estimar a conectividade funcional, identificando quais pares de osciladores mantêm padrões de atividade sincronizada durante a execução de paradigmas comportamentais.

A topologia da rede de osciladores impõe restrições à capacidade de sincronização do sistema, conforme demonstrado em estudos de redes complexas (Arenas *et al.*, 2008). Redes com estruturas de mundo pequeno ou com presença de centros (*hubs*) facilitam a sincronia global com menor esforço de acoplamento. A identificação de comunidades dentro das matrizes de correlação revela subconjuntos de neurônios que operam em regimes de sincronização local, permitindo que o sistema processe múltiplas informações em paralelo através da segregação e integração de ritmos distintos.

Dessa forma, a análise de correlação fornece o conjunto de dados necessário para a classificação de estados dinâmicos em modelos de aprendizado de máquina. As flutuações nos coeficientes de correlação ao longo do tempo refletem mudanças nos regimes de sincronização dos osciladores neuronais em resposta a interações sociais ou estímulos ambientais. Assim, a quantificação das matrizes de correlação serve como uma representação do estado instantâneo da rede, permitindo que algoritmos como a floresta aleatória identifiquem padrões estatísticos associados a comportamentos específicos do organismo.

### 3.2 O CONTEXTO BIOLÓGICO DO COMPORTAMENTO SOCIAL E A CODIFICAÇÃO NEURAL

O comportamento social constitui uma das expressões mais refinadas da função cerebral, emergindo da integração dinâmica entre percepção, motivação e memória. O substrato biológico central para essa orquestração é o Córtex Pré-Frontal, que exerce controle executivo sobre as respostas adaptativas do organismo. Compreender como a atividade neural nessa região codifica a complexidade das interações sociais exige uma análise que transite da macroanatomia para a microdinâmica de redes. Esta seção estabelece o contexto biológico do estudo, iniciando-se pela caracterização estrutural e funcional do Córtex Pré-Frontal medial e sua homologia no modelo murino. Em seguida, a discussão aprofunda-se nos mecanismos de codificação neural, demonstrando como estados mentais são representados estatisticamente por conjuntos neuronais (*ensembles*). Por fim, aborda-se o papel do sistema colinérgico como modulador essencial

da relação sinal-ruído nesse circuito, fundamentando a estratégia experimental de dissecação neuroquímica (Faure *et al.*, 2017; Avale *et al.*, 2011).

### 3.2.1 O Córtex Pré-Frontal Medial e suas sub-regiões

O comportamento social em mamíferos não é um mero reflexo automatizado a estímulos externos, mas o resultado de um processamento cognitivo refinado que integra percepção sensorial, memória afetiva e estados motivacionais internos. O centro de coordenação dessas habilidades é o Córtex Pré-Frontal, uma vasta área cortical que se expandiu significativamente em primatas e humanos, representando cerca de 30% do volume cortical total em nossa espécie. Essa região opera como um “hub” executivo, exercendo controle *top-down* sobre estruturas corticais mais primitivas, permitindo que o organismo iniba impulsos imediatos em favor de estratégias comportamentais complexas e socialmente adaptativas. A integridade funcional do PFC é, portanto, o substrato biológico que sustenta a flexibilidade comportamental necessária para a vida em grupo (Bear, 2017; Avale *et al.*, 2011).

Anatomicamente, o PFC humano é subdividido em áreas ventromedial, dorsolateral e orbital, que atuam como integradores de informações sensoriais, límbicas e motoras, orquestrando a resposta comportamental mais apropriada. A Figura 6 apresenta um diagrama das principais subdivisões do Córtex Pré-Frontal humano, essenciais para a coordenação das funções executivas e da cognição social (Lent, 2010). Nessas sub-regiões, o Córtex Cingulado Anterior (CCA) atua como o ponto inicial do processamento da razão, sendo encarregado de focalizar a atenção perceptual e cognitiva e de modular a atividade das áreas funcionais subsequentes, especialmente para avaliar recompensas e riscos sociais e para a teoria da mente. As áreas Dorsolaterais (DL-PFC) e Ventrolaterais (VL-PFC) são cruciais para a memória de trabalho, o raciocínio e a comparação de novas informações com o conhecimento prévio, permitindo a atualização constante das regras sociais (Kandel *et al.*, 2014).

Na transição para o modelo murino, o foco recai especificamente sobre o Córtex Pré-Límbico, uma sub-região do Córtex Pré-Frontal Medial. Conforme detalhado na Figura 7, o mPFC do roedor apresenta subdivisões funcionalmente homólogas às áreas de Brodmann humanas: o Córtex Cingulado Anterior (ACC) relaciona-se à área 24, enquanto as regiões Pré-Límbica (PL) e Infra-Límbica (IL) correspondem, respectivamente, às áreas 32 e 25, envolvidas na regulação emocional e motivação (Mohapatra; Wagner, 2023). O PL ocupa uma posição estratégica nessa hierarquia: recebe aferências multimodais do hipocampo (contexto espacial e memória) e da amígdala basolateral (valência emocional), e projeta eferências massivas para o núcleo accumbens (motivação e recompensa). Essa conectividade privilegiada confere ao PL o papel crucial de modular a interação social. Estudos de inativação farmacológica

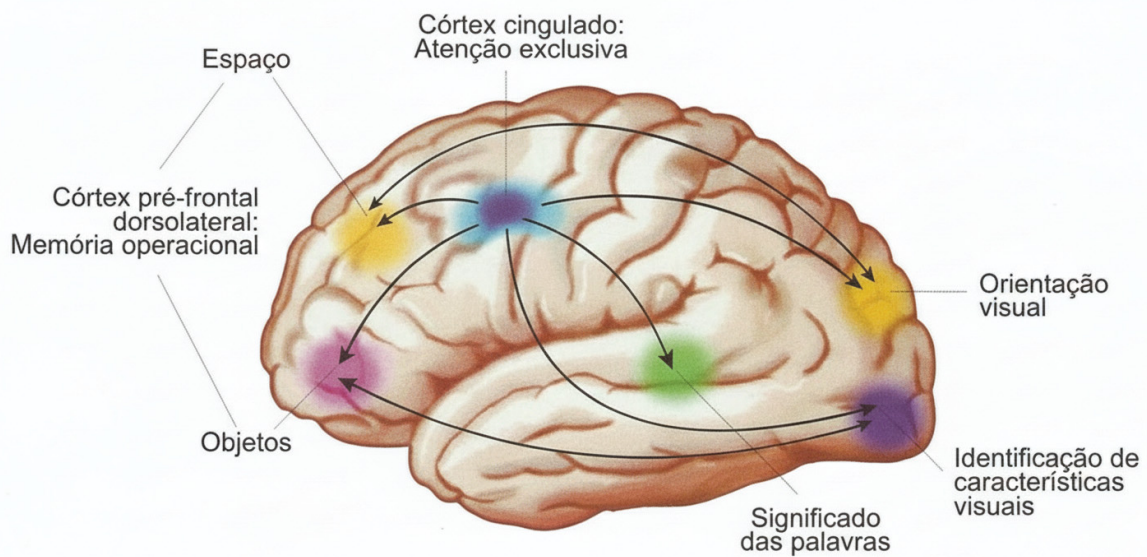


FIGURA 6 – Esquema Funcional Simplificado das Subdivisões do Córtex Pré-Frontal Humano. Representação das principais áreas do PFC e suas respectivas funções na cognição de ordem superior. O Córtex Cingulado Anterior (CCA) atua como o ponto inicial do processamento da razão, sendo encarregado de focalizar a atenção perceptual e cognitiva e de modular a atividade das áreas funcionais subsequentes. As áreas Dorsolaterais (DL-PFC) e Ventrolaterais (VL-PFC) são cruciais para a memória de trabalho, o raciocínio e a comparação de novas informações com o conhecimento prévio (informações antigas).  
 FONTE: Adaptado de (Lent, 2010).

demonstram que o silenciamento do PL reduz drasticamente o interesse social e prejudica a discriminação entre co-específicos familiares e novos, sem afetar a locomoção geral ou a exploração de objetos, evidenciando sua especialização no domínio social (Yashima *et al.*, 2023; Faure *et al.*, 2017).

A regulação exercida pelo PL sobre o comportamento social não é estática, mas emerge de uma codificação neural dinâmica e populacional. Conforme demonstrado por Liang *et al.*, neurônios excitatórios no mPFC de camundongos organizam-se em ensembles (conjuntos) funcionais distintos que sinalizam momentos específicos na interação. Existem populações de neurônios que aumentam preferencialmente sua taxa de disparo durante o início da exploração social (células “ON”), enquanto outras populações são silenciadas (células “OFF”). Crucialmente, esses padrões de ativação contêm informações suficientes para decodificar se o animal está interagindo com um co-específico ou com um objeto inanimado, sugerindo que o PL mantém uma representação neural explícita da saliência social (Liang *et al.*, 2018).

Essa codificação populacional obedece a princípios de eficiência computacional que maximizam a transmissão de informação. Trabalhos teóricos e experimentais recentes, como os de Schneidman *et al.*, sugerem que redes neurais biológicas, incluindo o córtex, operam em regimes onde correlações fracas entre pares de neurônios resultam em estados de rede com alta dependência estatística (ou comportamentos

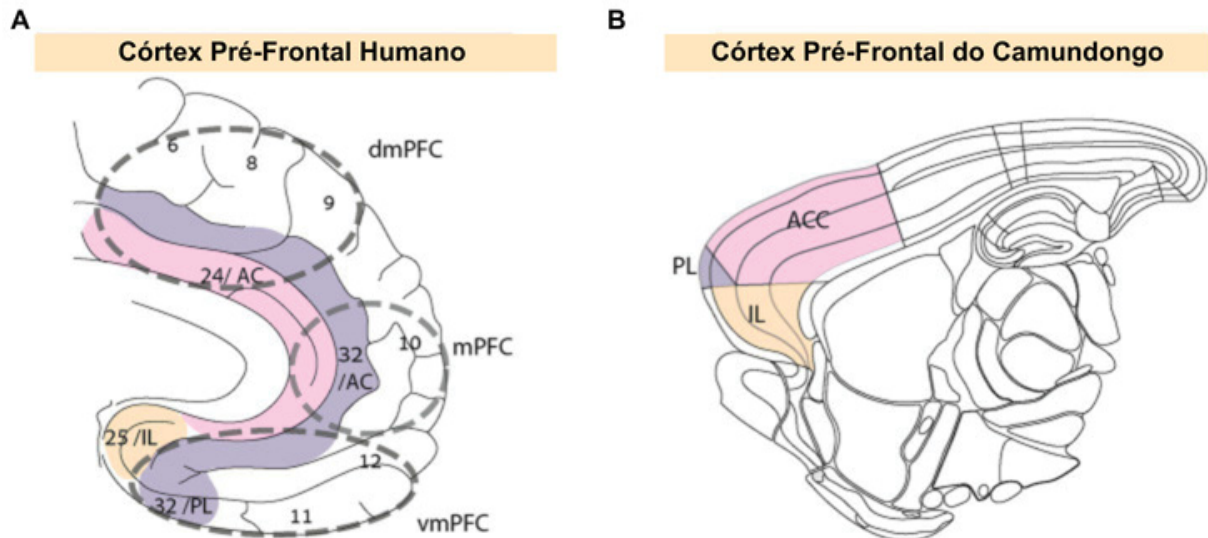


FIGURA 7 – Organização anatômica do Córtex Pré-Frontal em humanos e camundongos. (A) Representação esquemática do córtex pré-frontal humano, destacando suas principais subdivisões funcionais: dmPFC (dorsomedial prefrontal cortex; córtex pré-frontal dorsomedial), mPFC (medial prefrontal cortex; córtex pré-frontal medial) e vmPFC (ventromedial prefrontal cortex; córtex pré-frontal ventromedial). Os números indicados (6, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 25 e 32) correspondem às áreas de Brodmann (BA), uma classificação citoarquitetônica do córtex cerebral humano baseada na organização celular. Em especial, a BA 24 integra o córtex cingulado anterior (anterior cingulate cortex – ACC), enquanto as BA 25 e 32 estão associadas a regiões do CPF medial e ventromedial envolvidas em regulação emocional, motivação e cognição social. (B) Representação do córtex pré-frontal do camundongo, evidenciando regiões consideradas funcionalmente homólogas às subdivisões humanas: PL (Córtex Pré-Límbico), IL (Córtex Infralímbico) e ACC (Córtex Cingulado Anterior). As regiões coloridas ilustram as correspondências anatômicas e funcionais entre o córtex pré-frontal humano e o murino, que fundamentam o uso de modelos animais para o estudo dos circuitos pré-frontais envolvidos no comportamento social e em transtornos do neurodesenvolvimento. FONTE: Adaptado de (Mohapatra; Wagner,2023).

coletivos estruturados). Isso implica que a informação sobre o comportamento social não está contida em células isoladas, mas na estrutura combinatória de disparos de grandes populações. Esse arranjo reflete a degenerescência intrínseca dos sistemas neurais, onde diferentes padrões de ativação e silenciamento coordenado podem codificar estados comportamentais equivalentes, maximizando a entropia e a robustez do sistema frente a ruídos ou perdas neuronais (Yang; Prescott, 2023). O PL parece utilizar esse código distribuído para representar a complexidade das interações sociais, permitindo que o sistema distinga sutilmente entre diferentes contextos através da reconfiguração rápida de seus estados de rede (Schneidman *et al.*, 2006).

A capacidade do PL de processar essa vasta gama de estímulos sociais com alta sensibilidade pode ser explicada pelo conceito de Faixa Dinâmica e criticalidade. Conforme proposto por Kinouchi e Copelli, redes excitáveis otimizam sua capacidade de codificação e sua sensibilidade a estímulos quando operam próximas a um ponto crítico

de transição de fase. No contexto do mPFC durante a interação social, isso significa que a rede neuronal deve manter um equilíbrio precário entre excitação e inibição. Se a rede for muito subcrítica (muito inibida), ela falha em propagar a informação social; se for supercrítica (muito excitada), ela satura e perde a capacidade discriminativa. Evidências indicam que o estado basal do córtex de animais despertos flutua próximo a esse regime crítico, permitindo que o PL responda com flexibilidade a estímulos sociais sutis, uma propriedade fundamental para a navegação em hierarquias sociais complexas (Kinouchi; Copelli, 2006; Fontenele *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2024).

Além da codificação individual, o papel do PL estende-se à sincronização inter-cérebros. Kingsbury *et al.* revelaram que, durante interações sociais cooperativas ou competitivas, a atividade neural no mPFC de dois camundongos torna-se altamente correlacionada. Essa sincronia intercerebral não é mero artefato de comportamentos compartilhados, mas prediz o sucesso da interação e a estrutura de dominância futura. Isso sugere que o PL não apenas codifica as ações do próprio animal, mas também modela o comportamento do parceiro social, criando uma dinâmica de rede acoplada que facilita a coesão do grupo. A atividade do PL, portanto, transcende o indivíduo, funcionando como um oscilador social que sintoniza o comportamento entre membros da mesma espécie (Kingsbury *et al.*, 2019).

A relevância translacional desse sistema é sublinhada pela fisiopatologia. A disfunção do PFC e de suas sub-regiões, como o PL, é um marcador proeminente em distúrbios neuropsiquiátricos complexos. Modelos animais de autismo e esquizofrenia frequentemente exibem uma redução na relação sinal-ruído dos ensembles do PL e uma falha nos mecanismos de criticalidade, levando a uma rigidez comportamental e ao isolamento social. A incapacidade do PL em recrutar as populações neuronais corretas ou em manter a faixa dinâmica adequada resulta nos déficits centrais de interação social observados nessas condições. Portanto, elucidar como o PL codifica a sociabilidade em níveis de redes complexas é o primeiro passo para desenvolver intervenções capazes de restaurar a função executiva social (Avale *et al.*, 2011).

### 3.2.2 Mecanismos de Codificação Neural do Comportamento

A investigação sobre a tradução da atividade elétrica cerebral em comportamentos complexos passou por uma revisão fundamental nas últimas décadas. O modelo clássico, focado na análise de neurônios isolados e na busca por células especializadas em funções únicas, revelou-se insuficiente para capturar a dinâmica fluida das interações sociais. A neurociência moderna adota uma perspectiva populacional, assumindo que a informação é processada pela atividade coordenada de grandes conjuntos neuronais. Nessa concepção, a verdadeira unidade computacional do córtex não reside no neurônio individual, mas no estado funcional emergente da rede, que

detém uma capacidade de representação exponencialmente superior à soma de seus componentes isolados (Schneidman *et al.*, 2006).

Essa mudança de paradigma sustenta-se na evidência de que interações entre neurônios, mesmo quando individualmente fracas, dão origem a padrões coletivos robustos. A multiplicação de correlações de pares aparentemente negligenciáveis por uma população inteira resulta em estados de rede altamente ordenados. Essa estrutura de correlação confere ao cérebro mecanismos intrínsecos de correção de erros e de associação de memórias, propriedades indispensáveis para processar a volatilidade dos estímulos sociais sem perder a coerência da resposta comportamental (Schneidman *et al.*, 2006).

A validação experimental dessa teoria no contexto do comportamento social consolidou-se através de estudos que utilizaram registros em larga escala da atividade neuronal no mPFC, demonstrando que populações neuronais codificam estados comportamentais específicos. A análise da dinâmica de *ensembles* neuronais permite a decodificação confiável do engajamento do animal em comportamentos como a exploração social, indicando que a informação comportamental é representada de forma distribuída e preditiva no nível populacional (Liang *et al.*, 2018; Kingsbury *et al.*, 2019).

No que tange à arquitetura dessa codificação, a literatura descreve a existência de conjuntos neuronais funcionalmente segregados no mPFC. O monitoramento da atividade cortical permitiu identificar subpopulações de neurônios com respostas opostas durante o contato social: um grupo de células que aumenta drasticamente sua atividade no início da interação (células ON) e outro que é silenciado (células OFF). Tais conjuntos exibem uma sintonização fina com a saliência social, o que capacita o animal a distinguir rapidamente entre um objeto inanimado e um co-específico, independentemente da familiaridade do alvo (Liang *et al.*, 2018).

A dinâmica desses conjuntos neuronais não é estática, variando conforme a estrutura temporal da interação. A codificação neural no PFC exhibe padrões de correlação que flutuam em escalas de tempo de milissegundos a segundos. Durante o contato social, nota-se uma redução na variabilidade geral da atividade concomitante a um aumento na correlação entre pares específicos de neurônios. Esse fenômeno indica a entrada do córtex em um estado de atenção social, otimizando a relação sinal-ruído para processar as nuances do comportamento do parceiro com maior fidelidade (Frost *et al.*, 2021).

Contudo, a codificação neural não ocorre isolada do temperamento do indivíduo. A reatividade a estímulos sociais e não sociais varia consideravelmente entre diferentes linhagens genéticas, refletindo traços de personalidade distintos, como a propensão à exploração ou à esquiva. Isso sugere que os conjuntos neuronais do PFC não

processam apenas a informação sensorial objetiva, mas a filtram através de um viés interno de reatividade, gerando uma resposta dependente tanto do estímulo quanto da predisposição individual do animal (Berton *et al.*, 1997).

A integridade desses mecanismos de codificação mostra-se suscetível a fatores ambientais adversos, particularmente o estresse social e a hierarquia. A imposição de um status de subordinação, decorrente de derrota social, prejudica seletivamente as capacidades cognitivas e exploratórias. A experiência de estresse crônico altera a plasticidade sináptica e pode reconfigurar as regras de ativação dos conjuntos neuronais, fazendo com que estímulos sociais sejam codificados sob uma valência de ameaça, o que conduz a comportamentos desadaptativos de isolamento e ansiedade (Colas-Zelin *et al.*, 2012).

Para manter a funcionalidade adaptativa diante dessas pressões, o PFC depende de uma regulação neuroquímica precisa. A cognição social adequada emerge do equilíbrio entre os sistemas noradrenérgico e colinérgico. A disponibilidade de nora-drenalina e a ativação de receptores nicotínicos atuam como moduladores de ganho, ajustando a sensibilidade dos neurônios aos estímulos relevantes. A perturbação desse balanço químico compromete a formação dos conjuntos neuronais funcionais, resultando em déficits de atenção social e no aumento de comportamentos agressivos ou impulsivos (Coura *et al.*, 2013).

A codificação neural do comportamento social constitui um processo emergente e multifatorial que transcende a atividade de células isoladas. Ela depende da orquestração estatística de grandes populações neuronais, organiza-se em conjuntos funcionais específicos e dinâmicos, integra informações sobre o eu e o outro e é continuamente modulada por traços de personalidade, experiências de estresse e pelo ambiente neuroquímico. A compreensão dessa complexidade é essencial para decifrar como o cérebro sustenta a vida social e como falhas nesses mecanismos conduzem a patologias comportamentais.

Diante dessas teorias de codificação populacional, torna-se evidente que métodos lineares ou análises de células únicas seriam insuficientes para capturar a complexidade do comportamento social. É justamente para capturar essa estrutura combinatória mencionada na teoria que este trabalho optou pelo uso de algoritmos capazes de detectar padrões não-lineares de ativação coletiva que escapariam a uma análise estatística tradicional.

### 3.2.3 O Sistema Colinérgico no Córtex Pré-Frontal Medial

A modulação da atividade cortical não ocorre de maneira isolada, mas depende da influência difusa de sistemas de neurotransmissores que ajustam o estado global da rede neural. Entre esses sistemas, as projeções colinérgicas provenientes do

prosencefalo basal, especificamente do Núcleo Basal de Meynert, desempenham um papel arquitetônico na função do PFC. A acetilcolina liberada nessas terminações não atua apenas como um transmissor excitatório convencional, mas como um regulador da relação sinal-ruído, facilitando o processamento de estímulos relevantes e suprimindo a atividade intrínseca de fundo. Essa função de filtro atencional é o alicerce fisiológico que permite ao animal manter o foco em sinais sociais sutis em meio a um ambiente sensorialmente ruidoso (Bear, 2017).

A Figura 8 ilustra a arquitetura anatômica fundamental para este processo: as projeções colinérgicas originárias do prosencefalo basal, especificamente do Núcleo Basal de Meynert, irradiam-se extensivamente para todo o neocórtex. Esta organização difusa, visualizada pelas setas que partem dos núcleos basais em direção à superfície cortical, é de central importância para a hipótese deste trabalho, pois demonstra fisicamente como um pequeno grupo de neurônios centrais consegue exercer uma transmissão difusa sobre vastas áreas corticais, incluindo o PFC (Bear, 2017).

No contexto específico do comportamento social, a integridade desse sistema modulatório mostra-se indispensável. Avale et al. demonstraram que a sinalização colinérgica no PFC, mediada principalmente por receptores nicotínicos de alta afinidade contendo a subunidade  $\beta 2$  (nAChRs), é necessária para o reconhecimento social e para a tomada de decisão em contextos de novidade. A inibição desses receptores ou a lesão das fibras colinérgicas pré-frontais resulta em uma incapacidade seletiva de engajar em interações sociais adaptativas, sem prejudicar outras funções motoras ou motivacionais. Isso sugere que a acetilcolina fornece o tônus cognitivo necessário para que os conjuntos neuronais do PFC codifiquem a saliência de um novo parceiro social (Avale et al., 2011).

Para investigar a dinâmica do sistema colinérgico com a máxima especificidade, este estudo utilizou a linhagem de camundongos geneticamente modificados ChAT-IRES-Cre. A justificativa para essa escolha torna-se clara ao observarmos a fisiologia da sinapse, detalhada na Figura 9. A imagem demonstra que a produção de acetilcolina não acontece espontaneamente; ela exige uma peça fundamental: a enzima Colina Acetiltransferase (ChAT). Como mostrado no esquema, a ChAT é a única responsável por unir a colina à acetil-CoA para criar o neurotransmissor. Isso significa que, no cérebro, apenas os neurônios colinérgicos possuem essa enzima. Ao utilizar animais onde a modificação genética está atrelada justamente ao gene da ChAT, garantimos uma seletividade absoluta: estamos usando a própria via de síntese da célula como um endereço molecular. Isso assegura que nossos registros sejam restritos a esse tipo celular, sem contaminação por neurônios vizinhos (como glutamatérgicos ou GABAérgicos) que não possuem essa enzima (Lhopitallier et al., 2022).

A validação comportamental dessa linhagem foi conduzida extensivamente

## Sistema colinérgico

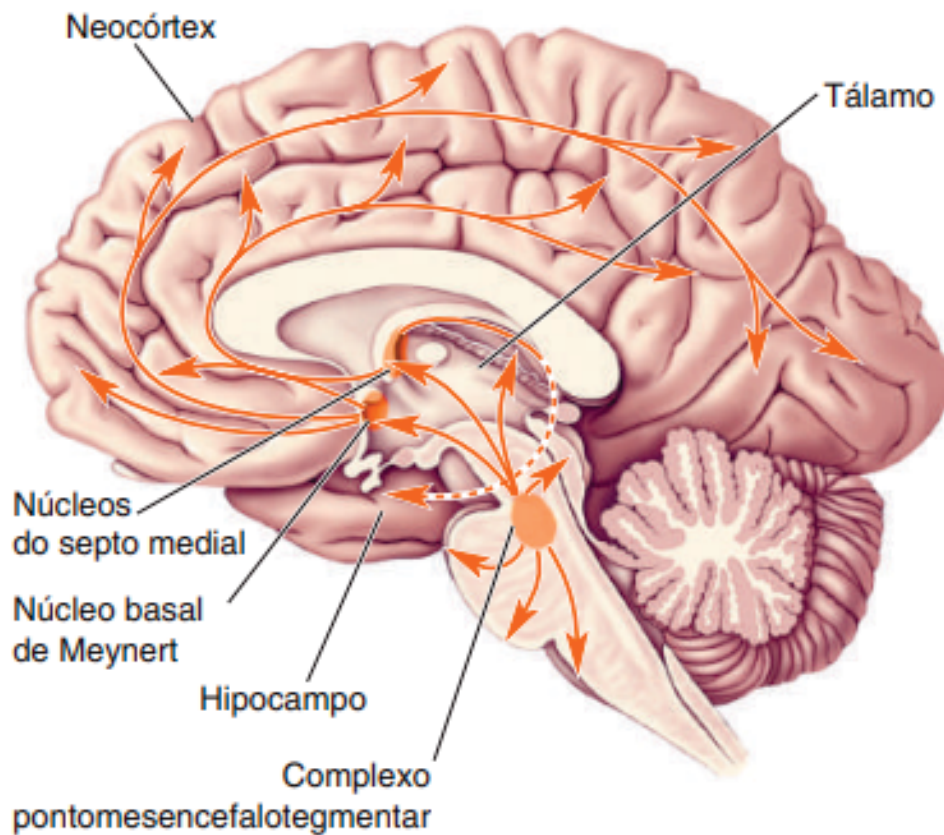


FIGURA 8 – Sistemas modulatórios colinérgicos de projeção difusa no encéfalo humano. O esquema em corte sagital evidencia as duas principais vias de origem da inervação colinérgica. A primeira, proveniente do Complexo do Prosencéfalo Basal (incluindo os núcleos do septo medial e o núcleo basal de Meynert), envia projeções amplas e difusas diretamente para o hipocampo e para todo o neocórtex, estruturas críticas para a aprendizagem e formação de memória. A segunda via origina-se no tronco encefálico (complexo pontomesencefalotegmentar) e projeta-se predominantemente para o tálamo dorsal, regulando a excitabilidade sensorial e os ciclos de sono-vigília.

FONTE: Adaptado de (Bear, 2017).

por Lhopitallier et al., que caracterizaram o perfil fenotípico de camundongos ChAT-Cre jovens e de meia-idade. O estudo confirmou que esses animais preservam um repertório comportamental robusto, exibindo padrões normais de exploração social, memória e reatividade emocional quando comparados a linhagens selvagens (C57BL/6). Essa caracterização prévia é fundamental, pois afasta a possibilidade de que a própria modificação genética induza déficits cognitivos, estabelecendo o modelo ChAT-Cre como uma plataforma confiável para dissecação de circuitos (Lhopitallier *et al.*, 2022).

A justificativa central para o emprego desses animais neste trabalho reside na estratégia experimental de longo prazo, que visa acoplar o imageamento de cálcio em populações piramidais com a manipulação bidirecional do tônus colinérgico. Embora o

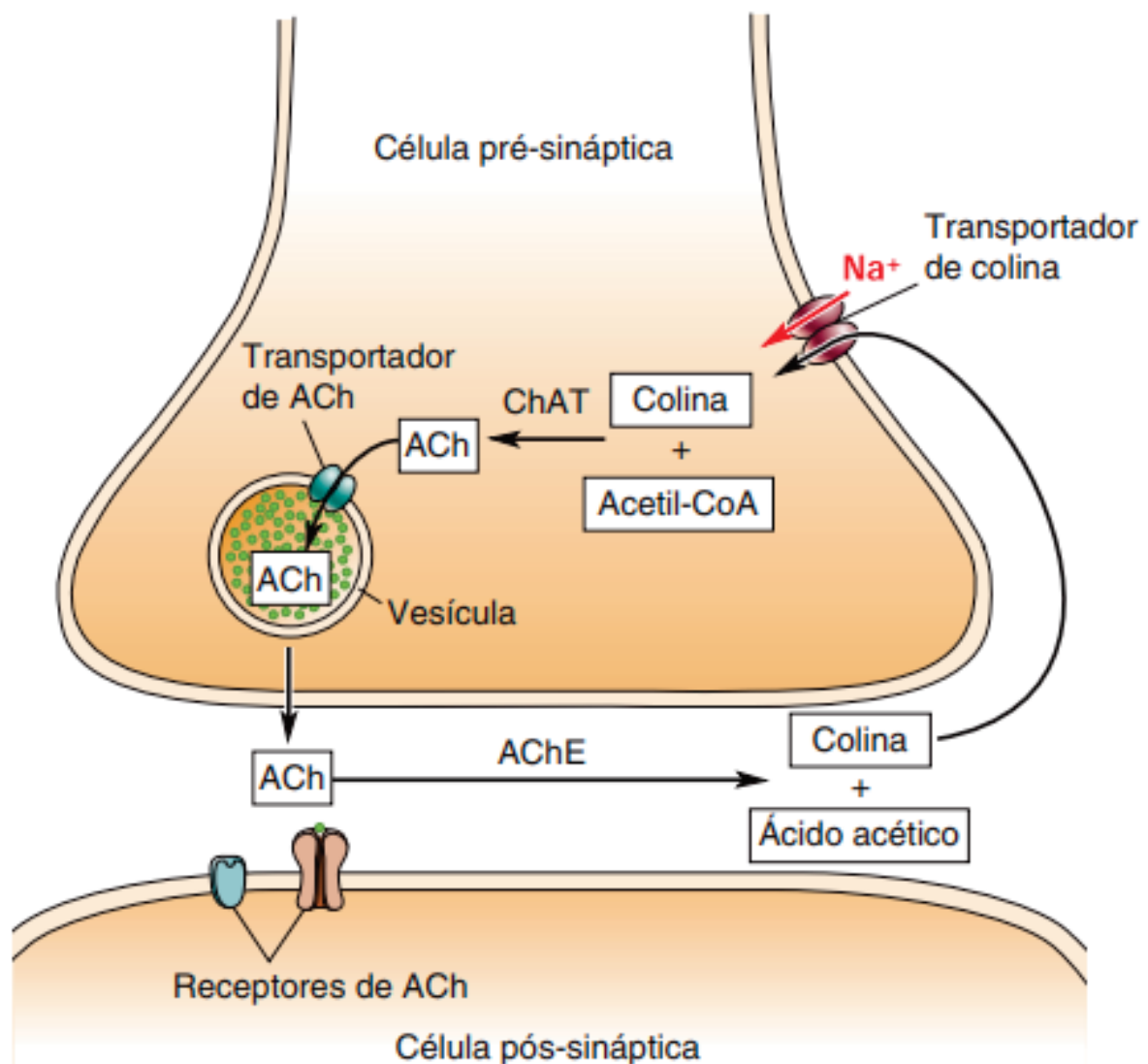


FIGURA 9 – O ciclo vital da acetilcolina (ACh) na terminação nervosa. O esquema ilustra o processo passo a passo da transmissão colinérgica. Primeiro, a colina é capturada do meio externo para dentro do terminal nervoso. Em seguida, ocorre a etapa de síntese: a enzima colina acetiltransferase (ChAT) atua como o catalisador crucial, fundindo a colina com a Acetil-CoA para formar a Acetilcolina. O neurotransmissor é então empacotado em vesículas e liberado na fenda sináptica. Após ativar os receptores na célula vizinha, a ACh é rapidamente degradada pela enzima acetilcolinesterase (AChE), liberando a colina para ser recaptada e reiniciar o ciclo.

FONTE: Adaptado de (Bear, 2017).

registro atual foque na atividade excitatória global, o uso do modelo Cre fornece a base biológica para futuras intervenções optogenéticas ou quimiogenéticas (DREADDs). Essa abordagem permitirá, em etapas subsequentes, ativar ou silenciar as aferências colinérgicas com precisão temporal de milissegundos enquanto se observa, simultaneamente, a reconfiguração dos conjuntos neuronais do PFC que codificam a interação social.

A relevância dessa manipulação futura é sublinhada pela complexidade da

interação neuroquímica no córtex. Coura et al. evidenciaram que a cognição social não depende apenas da acetilcolina isolada, mas de seu balanço dinâmico com o sistema noradrenérgico. A co-ativação desses sistemas é o que permite ao animal transitar entre estados de exploração pacífica e comportamentos de defesa ou agressão. Ao utilizar o modelo ChAT-Cre, torna-se possível isolar a variável colinérgica dessa equação, permitindo testar causalmente como a acetilcolina modula a formação dos ensembles neuronais descritos por Liang et al. e como sua ausência desestabiliza a codificação da identidade social (Coura *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2018).

Além disso, a sensibilidade do sistema colinérgico a fatores como o envelhecimento reforça a necessidade de modelos geneticamente rastreáveis. A redução na densidade de fibras colinérgicas e na expressão de receptores nicotínicos é uma marca do declínio cognitivo associado à idade, correlacionando-se com a perda de flexibilidade social. O modelo murino permite investigar como a degradação estrutural desse sistema impacta a dinâmica de rede no PFC, oferecendo insights sobre os mecanismos celulares subjacentes ao isolamento social observado em idosos e em doenças neurodegenerativas (Lhopitalier *et al.*, 2022).

O sistema colinérgico atua como um maestro que orquestra a prontidão do PFC para o processamento social. A utilização da linhagem ChAT-Cre não representa apenas uma escolha técnica, mas uma estratégia deliberada para investigar a interface entre a neuromodulação química e a codificação populacional. Ao estabelecer as bases para o controle preciso desse sistema, este trabalho avança na compreensão de como a acetilcolina molda a arquitetura funcional dos estados mentais necessários para a sociabilidade (Avale *et al.*, 2011).

### 3.3 TECNOLOGIAS DE AQUISIÇÃO DE DADOS E MODELOS COMPORTAMENTAIS

A compreensão dos mecanismos neurais que sustentam a cognição social impõe desafios experimentais únicos, exigindo abordagens capazes de capturar a dinâmica cerebral em sua plenitude funcional. Diferente de processos sensoriais passivos, o comportamento social é um fenômeno emergente, intrinsecamente recíproco e dependente de contexto, onde a ação de um indivíduo molda continuamente a resposta do outro (Berton *et al.*, 1997). Consequentemente, a riqueza dessas interações não pode ser plenamente reproduzida sob condições experimentais tradicionais que impõem restrição física severa ou o uso de anestesia, pois tais limitações suprimem a expressão natural de comportamentos etologicamente relevantes.

Para superar essas barreiras, esta seção estabelece a base tecnológica e metodológica adotada no estudo. A discussão inicia-se pela revolução trazida pelas ferramentas ópticas de registro neural, especificamente o imageamento de cálcio, que oferece uma resolução celular sem precedentes. Em seguida, descreve-se a

implementação da microendoscopia em animais livres, uma técnica que preenche a lacuna crítica entre a precisão fisiológica e a validade etológica. Por fim, a seção detalha os paradigmas comportamentais padronizados utilizados para quantificar a interação social, fornecendo a estrutura analítica necessária para correlacionar, de forma robusta, a atividade biológica observada com as funções cognitivas superiores (Aharoni; Hoogland, 2019; Faure *et al.*, 2017).

### 3.3.1 Imageamento de Cálcio In Vivo

A investigação da dinâmica neural em circuitos complexos, como o Córtex Pré-Frontal, exige métodos capazes de monitorar a atividade de grandes populações celulares com resolução espacial e temporal adequadas. Tradicionalmente, a eletrofisiologia serviu como o padrão-ouro para esse propósito, registrando os potenciais de ação através de eletrodos extracelulares. No entanto, essa abordagem apresenta limitações significativas na identificação fenotípica dos neurônios e na estabilidade do registro de longo prazo. Como alternativa, o imageamento de cálcio emergiu como uma ferramenta revolucionária, baseada em um princípio fisiológico fundamental: a correlação direta entre a atividade elétrica neuronal e o influxo de cálcio intracelular (Liang *et al.*, 2018).

Conforme detalhado por Bear *et al.*, a despolarização da membrana neuronal durante um potencial de ação provoca a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCCs, em inglês *Voltage-Gated Calcium Channels*). Esse evento resulta em um aumento rápido e transitório na concentração de cálcio citosólico ( $[Ca^{2+}]_i$ ), que é ordens de magnitude superior aos níveis basais de repouso. Portanto, ao monitorar as flutuações na concentração de cálcio, é possível inferir a atividade de disparo neuronal, utilizando o cálcio como um proxy biológico confiável dos potenciais de ação (Bear, 2017).

Para visualizar essas flutuações em tecidos vivos, a técnica emprega Indicadores de Cálcio Geneticamente Codificados (GECIs, em inglês *Genetic-Encoded Calcium Indicators*), sendo a família GCaMP a mais proeminente. O sensor GCaMP é uma proteína quimérica engenheirada que funde a Proteína Verde Fluorescente (GFP, em inglês *Green Fluorescent Protein*), a calmodulina (uma proteína ligante de cálcio) e o peptídeo M13 (um alvo da calmodulina). Em estado de repouso, a proteína apresenta baixa fluorescência. Contudo, quando o cálcio intracelular se liga à calmodulina, ocorre uma mudança conformacional alostérica que fecha a fenda da GFP, aumentando drasticamente sua intensidade fluorescente. Essa propriedade permite que cada disparo neuronal seja visualizado como um flash de luz mensurável (Liang *et al.*, 2018).

A implementação dessa técnica no cérebro de roedores depende de estratégias precisas de entrega gênica. Para garantir que o sensor seja expresso apenas na região e no tipo celular de interesse, utilizam-se vetores virais adeno-associados (AAVs, em

inglês *adeno-associated viruses*). No protocolo adotado neste estudo emprega-se um vetor do serotipo 9 (AAV9) contendo o gene para o sensor ultrarrápido GCaMP6f.

A especificidade celular é assegurada pelo uso de promotores genéticos específicos dentro do vetor viral. Para investigar a codificação social no PFC, é crucial isolar a atividade dos neurônios piramidais, que constituem a principal via de saída da informação cortical. Para isso, o vetor viral utiliza o promotor da quinase dependente de cálcio/calmodulina II (CaMKII). Conforme estabelecido na literatura, esse promotor restringe a expressão do GCaMP6f aos neurônios excitatórios, evitando a contaminação do sinal por interneurônios inibitórios ou células da glia. Essa seletividade é vital para interpretar corretamente como a saída do PFC modula o comportamento social (Kingsbury *et al.*, 2019).

Após a injeção estereotáxica do vetor viral no PFC, é necessário um período de incubação (tipicamente de algumas semanas) para que a maquinaria celular transcreva e traduza a proteína fluorescente em níveis suficientes para detecção. Uma vez expresso, o indicador preenche o citoplasma neuronal, permitindo não apenas a detecção de atividade no soma, mas também, dependendo da resolução óptica, em dendritos e processos axonais.

A grande vantagem do imageamento de cálcio sobre os métodos elétricos tradicionais reside na sua capacidade de rastreamento longitudinal. Enquanto eletrodos podem se deslocar e perder o sinal de uma célula específica ao longo dos dias, a expressão genética do GCaMP é estável. Isso permite que os mesmos neurônios sejam reidentificados e monitorados ao longo de múltiplas sessões experimentais, possibilitando a análise de como a codificação neural evolui com a familiaridade social ou em resposta a manipulações farmacológicas (Frost *et al.*, 2021).

### 3.3.2 A Microendoscopia e o Registro em Livre Movimento

A captura da dinâmica neural subjacente ao comportamento social impõe um desafio técnico singular: a necessidade de registrar a atividade cerebral enquanto o animal se move livremente e interage com seus co-específicos. Métodos convencionais de microscopia, como a microscopia de dois fótons de bancada, exigem que a cabeça do animal esteja fixada sob uma objetiva imóvel. Embora essa restrição permita uma estabilidade de imagem excepcional, ela suprime a expressão de comportamentos etologicamente relevantes, limitando severamente a investigação de processos cognitivos que dependem da navegação espacial e da interação social dinâmica (Faure *et al.*, 2017).

Para superar essa barreira, o campo da neurociência testemunhou o desenvolvimento de microscópios de epifluorescência em miniatura, conhecidos como miniscópios, cuja arquitetura e aplicação são apresentadas na Figura 10. Esses dispositivos pesam

menos de 3 gramas e são montados diretamente na cabeça do animal (conforme ilustrado no painel B), permitindo que ele carregue todo o sistema óptico enquanto explora o ambiente. O avanço crucial dessa tecnologia foi a integração de sensores de imagem CMOS (semelhantes aos de câmeras de smartphones), fontes de luz LED miniaturizadas e lentes de índice de gradiente (GRIN), que transmitem a imagem de estruturas cerebrais profundas para o sensor na superfície (Aharoni; Hoogland, 2019).

O princípio de funcionamento do miniscópio, detalhado esquematicamente no painel A da Figura 10, baseia-se na excitação de indicadores de cálcio fluorescentes, como o GCaMP6f, expressos nos neurônios de interesse. Um LED azul embutido no dispositivo emite luz que excita os fluoróforos no tecido cerebral. A fluorescência verde emitida pelos neurônios ativos retorna pelo sistema óptico, é filtrada e focada no sensor de imagem. Dados de vídeo da atividade neural são transmitidos via cabo coaxial fino e flexível para um sistema de aquisição externo, que sincroniza os quadros de fluorescência com o vídeo comportamental do animal (Cai *et al.*, 2016).

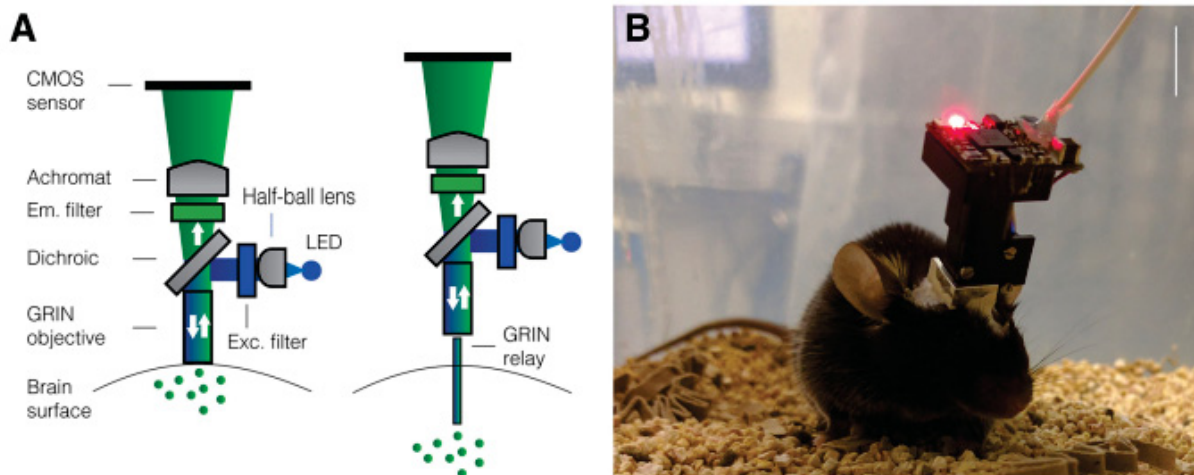


FIGURA 10 – Design e princípios ópticos do microscópio miniaturizado de um fóton. (A) Esquema dos componentes internos e do trajeto da luz. A luz de excitação (LED azul) passa por um colimador e um filtro de excitação, sendo refletida por um espelho dicróico em direção ao tecido através da lente objetiva GRIN (Índice de Gradiente). A fluorescência emitida pelos neurônios (verde) retorna pela lente, atravessa o espelho dicróico e um filtro de emissão, sendo finalmente focada por uma lente acromática no sensor CMOS. O diagrama à direita demonstra a configuração para estruturas profundas, onde uma lente GRIN de relé (relay lens) é implantada no cérebro para alcançar as células marcadas (pontos verdes). (B) Exemplo de um Miniscópio UCLA de código aberto montado na cabeça de um camundongo. O dispositivo de 3g é fixado via baseplate, permitindo o registro em livre movimento, embora o cabo coaxial possa influenciar sutilmente a interação social.

FONTE: Adaptado de (Aharoni; Hoogland, 2019).

A implantação dessa tecnologia requer um procedimento cirúrgico preciso para criar uma janela óptica acessível. Como o PFC é uma estrutura cortical profunda em relação à superfície dorsal do crânio, utiliza-se uma lente de relé ou um prisma óptico

implantado cirurgicamente (análogo à configuração direita mostrada na Figura 10A). No protocolo cirúrgico, um micro-prisma é inserido no espaço subdural adjacente ao PFC. Esse prisma reflete a luz em 90 graus, permitindo que o miniscópio, posicionado verticalmente sobre o crânio, visualize a face medial do PFC (camadas II a VI) sem causar danos diretos ao tecido que está sendo registrado.

A importância do registro em livre movimento (*freely moving*) transcende a mera conveniência técnica; ela é fundamental para a naturalidade comportamental dos dados. O comportamento social é inerentemente multimodal e recíproco, envolvendo uma dança complexa de aproximações, contatos táteis, cheiradas anogenitais e ajustes posturais. Estudos demonstram que a restrição de movimento altera drasticamente os estados de rede cortical, suprimindo oscilações e padrões de disparo que só emergem durante o comportamento ativo. Portanto, a microendoscopia é a única ferramenta capaz de capturar os ensembles neuronais descritos por Liang et al. em seu contexto funcional nativo, revelando como o cérebro computa a sociabilidade em tempo real (Liang *et al.*, 2018).

Além disso, a portabilidade do sistema permite a realização de baterias de testes comportamentais complexos que seriam impossíveis com animais fixados. É viável, por exemplo, monitorar a mesma população de neurônios enquanto o animal navega por um labirinto de três câmaras, interage com um objeto novo e, posteriormente, encontra um co-específico agressivo. Essa flexibilidade experimental é crucial para dissociar se a atividade de um neurônio codifica uma posição espacial, uma ação motora específica ou a presença de um parceiro social, permitindo a construção de modelos preditivos robustos sobre a função do circuito (Kingsbury *et al.*, 2019).

No entanto, o registro em animais livres introduz desafios computacionais significativos. O movimento vigoroso do animal gera artefatos de deslocamento e flutuações na luminosidade que podem mascarar o sinal de cálcio. Para mitigar esses problemas, o processamento dos dados brutos exige pipelines computacionais avançados, como o MIN1PIPE, cuja estrutura operacional é detalhada na Figura 11. Conforme ilustrado no painel A, o fluxo de trabalho atua em série para transformar os dados brutos, dominados por ruído de fundo, em sinais limpos. O processo envolve o realce neural inicial, seguido por uma correção hierárquica de movimento (detalhada no painel B) que estabiliza o vídeo quadro a quadro, e culmina na extração de sinal baseada em sementes (*seeds-cleansed*), isolando os corpos celulares (somas) do neurópilo difuso (Lu *et al.*, 2018).

A microendoscopia aliada a esse robusto processamento de dados representa uma mudança de paradigma na neurociência de sistemas. Ao levar o microscópio até o cérebro em vez de fixar o cérebro ao microscópio, essa tecnologia preenche a lacuna entre a análise celular detalhada e a etologia. Ela permite observar a mente em ação,

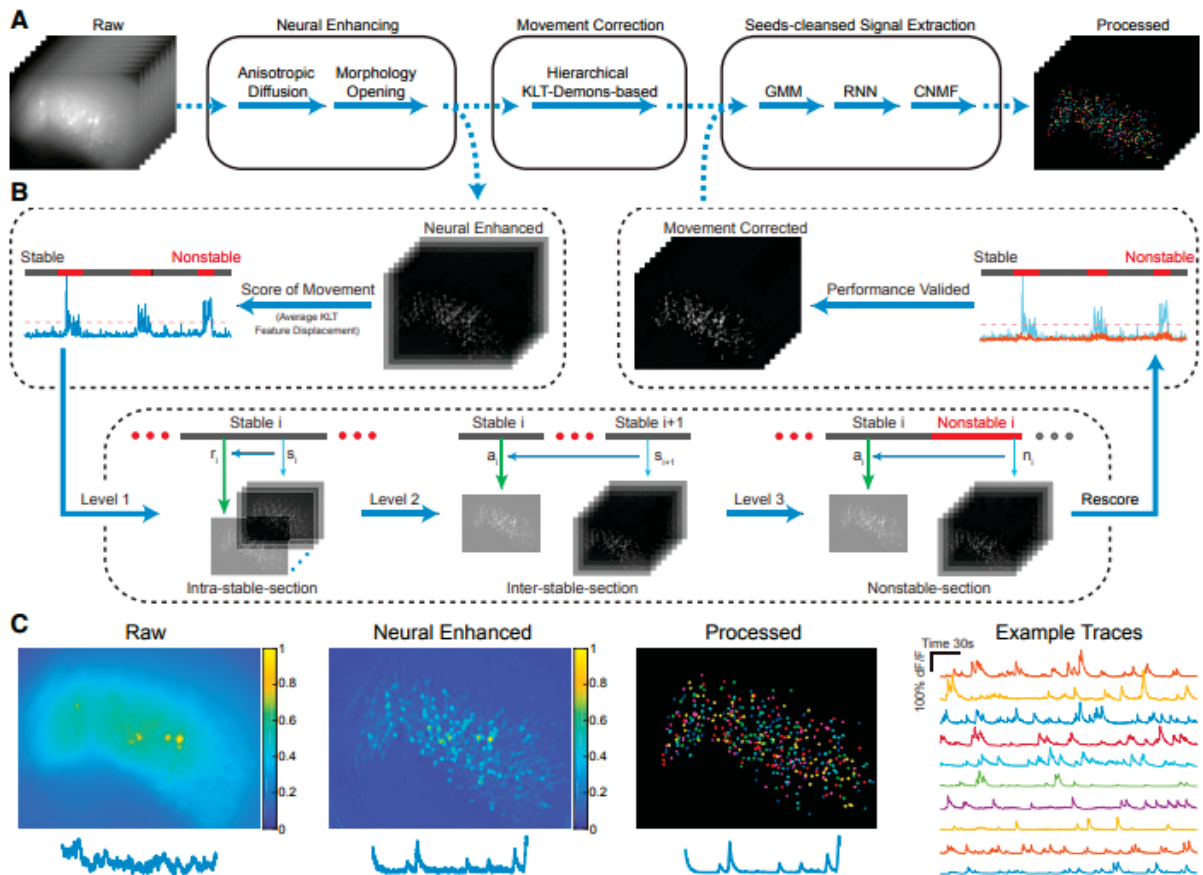


FIGURA 11 – Pipeline geral e demonstração do algoritmo MIN1PIPE. (A) Estrutura global do processamento: o algoritmo recebe os dados brutos de imagem do miniscópio e fornece como saída componentes de regiões de interesse (ROIs) processados, contendo a localização espacial e os traços temporais de cálcio. O processamento ocorre em módulos seriais: realce neural, correção hierárquica de movimento e extração de sinal limpo. (B) Detalhe do módulo de correção de movimento: baseado no método KLT-Log Demons, o sistema classifica os quadros em estáveis e instáveis para realizar o registro em três níveis de precisão. (C) Visualização das etapas-chave do processo. Da esquerda para a direita: quadros do vídeo bruto (com alta flutuação de fundo); vídeo com realce neural (onde os sinais neurais tornam-se predominantes); e o vídeo totalmente processado, contendo apenas os sinais neurais extraídos e livres de ruído (denoised) como componentes independentes.

FONTE: Adaptado de (Lu *et al.*, 2018).

registrando a sinfonia de disparos neuronais que orchestra o comportamento social no exato momento em que ele acontece, fornecendo os dados de alta dimensão e alta fidelidade (como visto no painel C da Figura 11) necessários para alimentar os modelos de classificação baseados em inteligência artificial (Aharoni; Hoogland, 2019).

### 3.3.3 Testes Comportamentais de Interação Social em Roedores

A avaliação quantitativa da cognição social em modelos murinos exige paradigmas experimentais que permitam isolar componentes específicos do comportamento,

como a motivação para a aproximação, a discriminação de novidade e a memória social. Para traduzir a complexidade das interações naturais em variáveis mensuráveis e correlacionáveis com a atividade neural, este estudo emprega dois protocolos clássicos e complementares: a Tarefa de Interação Social (SIT) em campo aberto e a Tarefa de Três Câmaras (3-CH). Ambos os testes foram desenhados para capturar diferentes facetas da sociabilidade enquanto o animal navega livremente, garantindo a validade etológica necessária para o registro simultâneo via microendoscopia (Faure *et al.*, 2017).

O protocolo da Tarefa de Interação Social (SIT), ilustrado no painel A da Figura 12, baseia-se na dinâmica de encontro diádico entre um animal residente (o sujeito experimental) e um animal visitante (conspecífico desconhecido). A estrutura do teste compreende uma fase inicial de habituação, essencial para reduzir a ansiedade associada à novidade do ambiente e estabilizar a atividade locomotora basal, seguida pela fase de teste propriamente dita, onde ocorre a introdução do animal visitante.

Diferente de protocolos que restringem o movimento do visitante, o SIT permite a interação física direta e recíproca entre os animais (ver Figura 12A). Isso possibilita a avaliação de um repertório comportamental rico e naturalístico, que inclui cheiradas anogenitais, perseguição, esquiva ativa e eventuais manifestações de dominância. A análise desses eventos permite distinguir, por exemplo, se o contato foi iniciado pelo hospedeiro ou pelo visitante, diferenciando a motivação social ativa da mera receptividade passiva, traços que podem possuir correlatos neurais distintos no PFC (Berton *et al.*, 1997; Lhopitalier *et al.*, 2022).

Complementarmente ao SIT, o Teste de Três Câmaras (3-CH), ou suas variações simplificadas utilizando recipientes perfurados apresentadas na Figura 12B, é amplamente utilizado para avaliar a preferência social sob condições controladas. Neste paradigma, o animal visitante é contido dentro de um recipiente (Copo Social), enquanto um segundo recipiente permanece vazio ou contém um objeto inanimado (Copo Não-Social).

A principal vantagem metodológica do 3-CH reside na restrição física do estímulo social. Ao conter o animal visitante, elimina-se a variabilidade introduzida pela movimentação imprevisível do parceiro, isolando puramente a motivação voluntária do sujeito experimental em se aproximar e investigar o estímulo. Os parâmetros avaliados focam no tempo de exploração direta (orientação do focinho para os orifícios), permitindo calcular índices de preferência social robustos ao comparar a investigação do alvo social *versus* o alvo não-social. Além da preferência, essa estrutura facilita a investigação da codificação de saliência, pois permite contrastar a atividade neural frente a estímulos sociais e não-sociais em posições espaciais fixas e controladas (Avale *et al.*, 2011; Liang *et al.*, 2018).

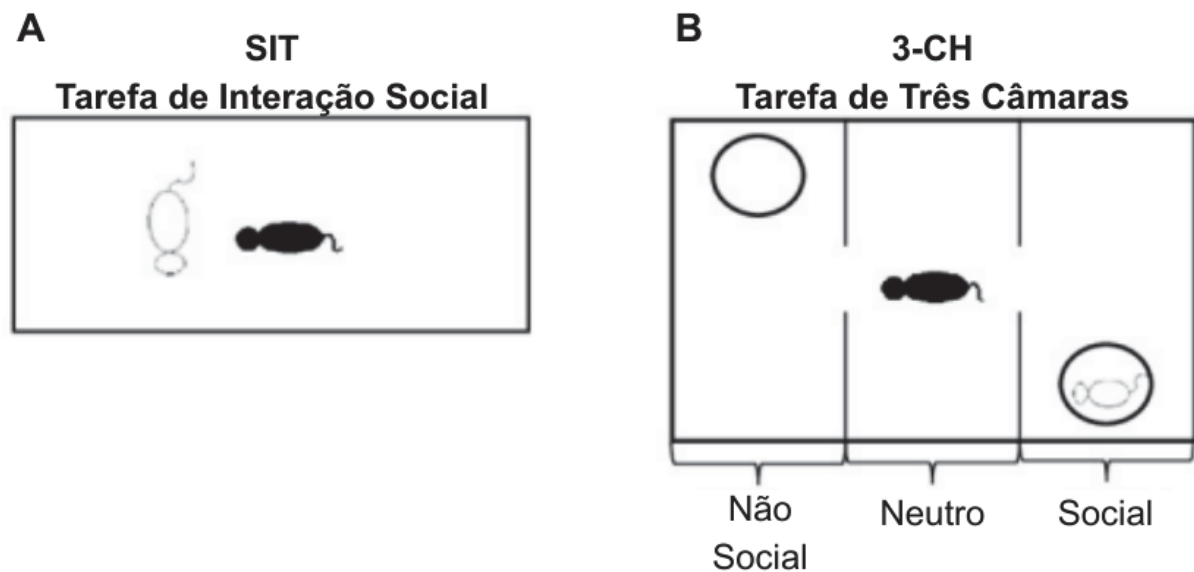


FIGURA 12 – Paradigmas comportamentais clássicos para avaliação da interação social. (A) Tarefa de Interação Social (SIT): Representação esquemática do teste em campo aberto, caracterizado pela interação livre e recíproca entre o animal experimental (Hospedeiro, representado pelo camundongo preto) e o co-específico desconhecido (Visitante, representado pelo camundongo branco). (B) Tarefa de Três Câmaras (3-CH): Configuração do teste de preferência social utilizando recipientes perfurados. Neste cenário, o visitante é mantido contido, permitindo que o hospedeiro investigue o estímulo social através dos orifícios sem contato físico direto. Esta configuração isola a motivação voluntária para aproximação e elimina a variabilidade da interação física.

FONTE: Adaptado de (Lhopitallier *et al.*, 2022)

A aplicação conjunta desses testes fornece uma visão abrangente do fenótipo social. Enquanto o SIT captura a dinâmica fluida e recíproca da interação “real”, o 3-CH oferece uma medida controlada da motivação e preferência. Quando combinados com técnicas de registro neural, esses paradigmas oferecem os rótulos comportamentais necessários para treinar algoritmos de classificação, permitindo investigar como o cérebro representa e computa a sociabilidade em diferentes contextos (Kingsbury *et al.*, 2019).

### 3.4 O APRENDIZADO DE MÁQUINA NA DECODIFICAÇÃO DE SINAIS NEURAIS

A transição da neurociência de neurônios isolados para a neurociência de populações gerou um aumento exponencial na complexidade e no volume dos dados adquiridos. O registro simultâneo de centenas de células através do imageamento de cálcio produz séries temporais de alta dimensionalidade que desafiam os métodos estatísticos convencionais. Para extrair padrões biológicos significativos desse vasto conjunto de informações, torna-se necessário o emprego de ferramentas computacionais avançadas. Esta seção discute a aplicação de técnicas de Aprendizado de Máquina no contexto da neurociência de sistemas, fundamentando o uso desses algoritmos

não apenas como ferramentas de processamento de sinal, mas como modelos para investigar a dinâmica da codificação neural. Discute-se especificamente a aplicação de métodos supervisionados para a predição comportamental, detalhando a arquitetura do algoritmo *Random Forest* e a relação teórica entre a correlação neuronal e o conteúdo informacional disponível para a classificação (Schneidman *et al.*, 2006).

### 3.4.1 A Inteligência Artificial na Ciência de Dados Neurobiológicos

No seu cerne, a Inteligência Artificial (IA) é um ramo vasto da ciência da computação dedicado a criar sistemas, ou agentes, que podem simular faculdades cognitivas humanas. Isso inclui a capacidade de raciocinar, aprender com a experiência, perceber o ambiente, compreender a linguagem e tomar decisões para atingir um objetivo específico. O objetivo fundamental não é meramente imitar o comportamento humano, mas replicar a capacidade de resolver problemas de forma inteligente, autônoma e adaptativa.

Essa busca por autonomia e adaptação posiciona a IA como um verdadeiro divisor de águas no conhecimento científico e tecnológico. O recente e contínuo aumento do poder computacional, somado à expansão massiva da capacidade de armazenamento em sistemas digitais, criou o que pode ser descrito como um terreno fértil. Neste novo cenário, dados de alta dimensionalidade podem ser não apenas armazenados, mas facilmente obtidos e processados em grandes quantidades. É nesse terreno que métodos algorítmicos apropriados, ao explorarem esses vastos conjuntos de dados, desenvolvem uma capacidade sem precedentes para a resolução de problemas que antes eram considerados intratáveis.

É nesse contexto que a IA vivencia, na última década, um período de avanço e popularização surpreendente no mundo inteiro. A explosão recente é impulsionada em grande parte pelos avanços no Aprendizado de Máquina e pelo surgimento dos Modelos de Linguagem de Larga Escala (LLMs, em inglês *Large Language Models*). A chegada de ferramentas acessíveis ao público, como o ChatGPT da Open AI e o Gemini do Google, colocou a IA em destaque em diversos âmbitos educacionais e profissionais, ilustrando o poder dessa nova fase tecnológica.

Contudo, o campo não surgiu recentemente. A história da Inteligência Artificial tem origem no artigo seminal de Alan Turing, *Computing Machinery and Intelligence* (1950) (Turing, 1950), que introduziu o famoso Teste de Turing e sugeriu que máquinas poderiam simular comportamentos inteligentes. Poucos anos depois, o workshop de Dartmouth (1956) formalizou o termo “Inteligência Artificial”, lançando as bases da pesquisa em IA. Nas décadas seguintes, expectativas grandiosas foram confrontadas por críticas profundas, como a de que computadores dominariam xadrez, música e matemática, que reduziram financiamentos e levaram a ciclos de estagnação na

pesquisa acadêmica e industrial.

O ressurgimento ganhou força com marcos simbólicos que superaram desafios antes considerados exclusivos do intelecto humano. O primeiro foi a vitória do supercomputador Deep Blue (IBM - *International Business Machines*) sobre o campeão mundial de xadrez, Garry Kasparov, em 1997. Embora essa vitória tenha sido alcançada primeiramente através de um poder computacional massivo para busca e avaliação, ela provou que a máquina poderia superar o homem no que era visto como o auge do pensamento estratégico.

Um marco ainda mais decisivo ocorreu em 2016, quando o *AlphaGo* (Google *DeepMind*) derrotou Lee Sedol, um dos maiores mestres mundiais de Go. A importância desse evento foi exponencialmente maior: Go é um jogo de complexidade vasta, impossível de ser resolvido por força bruta. O sucesso do *AlphaGo* foi a primeira grande prova pública do poder do Aprendizado Profundo (*Deep Learning*), que utilizou Redes Neurais Profundas para aprender a jogar e desenvolver estratégias intuitivas. Foi essa validação do Aprendizado Profundo que abriu caminho para a explosão dos *transformers* e o subsequente lançamento do ChatGPT-3.5 em novembro de 2022, democratizando o acesso a modelos de linguagem avançados e consolidando o início deste novo ciclo (Sobreira, 2025).

Fica claro, portanto, que a Inteligência Artificial é um campo vasto com múltiplos ramos, cuja organização hierárquica pode ser visualizada na Figura 13. O diagrama ilustra como o Aprendizado Profundo é um subconjunto especializado do Aprendizado de Máquina, que por sua vez está contido na disciplina maior da Inteligência Artificial. Enquanto os LLMs, como o ChatGPT, representam a vanguarda da IA generativa, o motor por trás dessa revolução é o Aprendizado de Máquina. É este subcampo da IA, focado na capacidade de algoritmos aprenderem padrões e tomarem decisões a partir de dados, que oferece as ferramentas analíticas e preditivas necessárias para os desafios de classificação propostos nesta dissertação.

#### 3.4.2 O Aprendizado de Máquina na Predição de Comportamento

O Aprendizado de Máquina, ou *Machine Learning*, é o subcampo da Inteligência Artificial que impulsionou a recente revolução tecnológica. Formalmente, o AM pode ser definido como o conjunto de técnicas que permite aos computadores melhorar seu desempenho em tarefas específicas a partir da análise de dados, sem que sejam explicitamente programados para cada regra. Em vez de seguir um conjunto fixo de instruções predefinidas, o sistema aprende padrões e relações diretamente dos exemplos fornecidos.

O campo do Aprendizado de Máquina é vasto, mas tradicionalmente dividido em três categorias principais que orientam a escolha dos algoritmos. A categoria

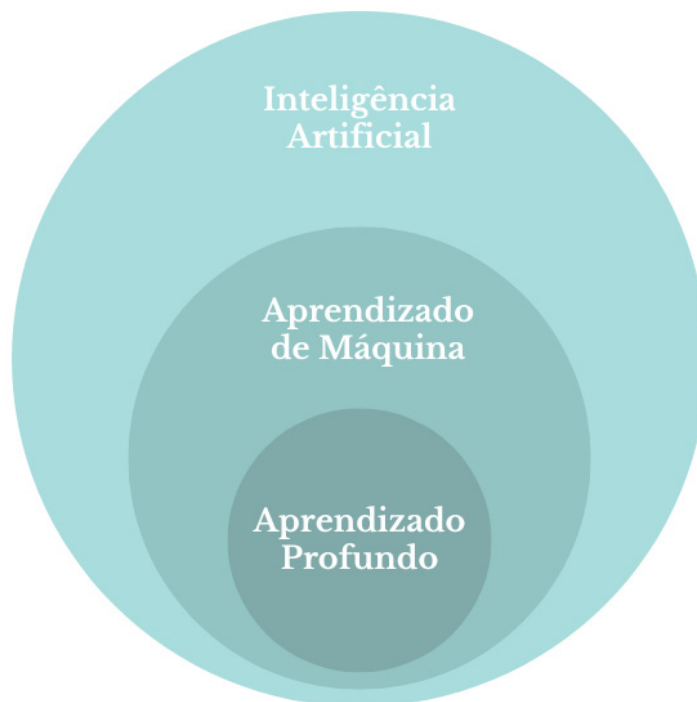


FIGURA 13 – Representação esquemática da hierarquia dos campos da Inteligência Artificial. O diagrama ilustra a relação de subconjuntos entre as áreas: a Inteligência Artificial (círculo externo) é a área abrangente dedicada à simulação de comportamento inteligente; o Aprendizado de Máquina (círculo intermediário) é o subcampo focado em algoritmos estatísticos que extraem padrões de dados sem a programação explícita de regras; e o Aprendizado Profundo (círculo interno) constitui uma especialização do Aprendizado de Máquina que utiliza redes neurais artificiais com múltiplas camadas para processar representações de alta complexidade.

mais comum é o Aprendizado Supervisionado, na qual o algoritmo é treinado com um conjunto de dados onde cada exemplo de entrada é acompanhado por um rótulo ou resposta correta (a *target*). O objetivo do modelo é aprender a função que mapeia as entradas para as saídas corretas, permitindo-lhe fazer previsões para novos dados nunca vistos.

Em contraste, o Aprendizado Não Supervisionado lida com dados que não possuem rótulos. O objetivo aqui é descobrir estruturas ocultas ou padrões intrínsecos nos dados, como no caso de algoritmos de agrupamento (*clustering*) ou redução de dimensionalidade. Uma terceira categoria, o Aprendizado por Reforço, envolve um “agente” que aprende a tomar decisões interagindo com um ambiente, sendo guiado por um sistema de recompensas ou punições por suas ações, uma abordagem fundamental em robótica e jogos. A Figura 14 sintetiza as diferenças fundamentais entre essas três abordagens, ilustrando como o fluxo de dados e o mecanismo de *feedback* variam em cada paradigma.

Na prática, a implementação do AM engloba um amplo espectro de algoritmos.

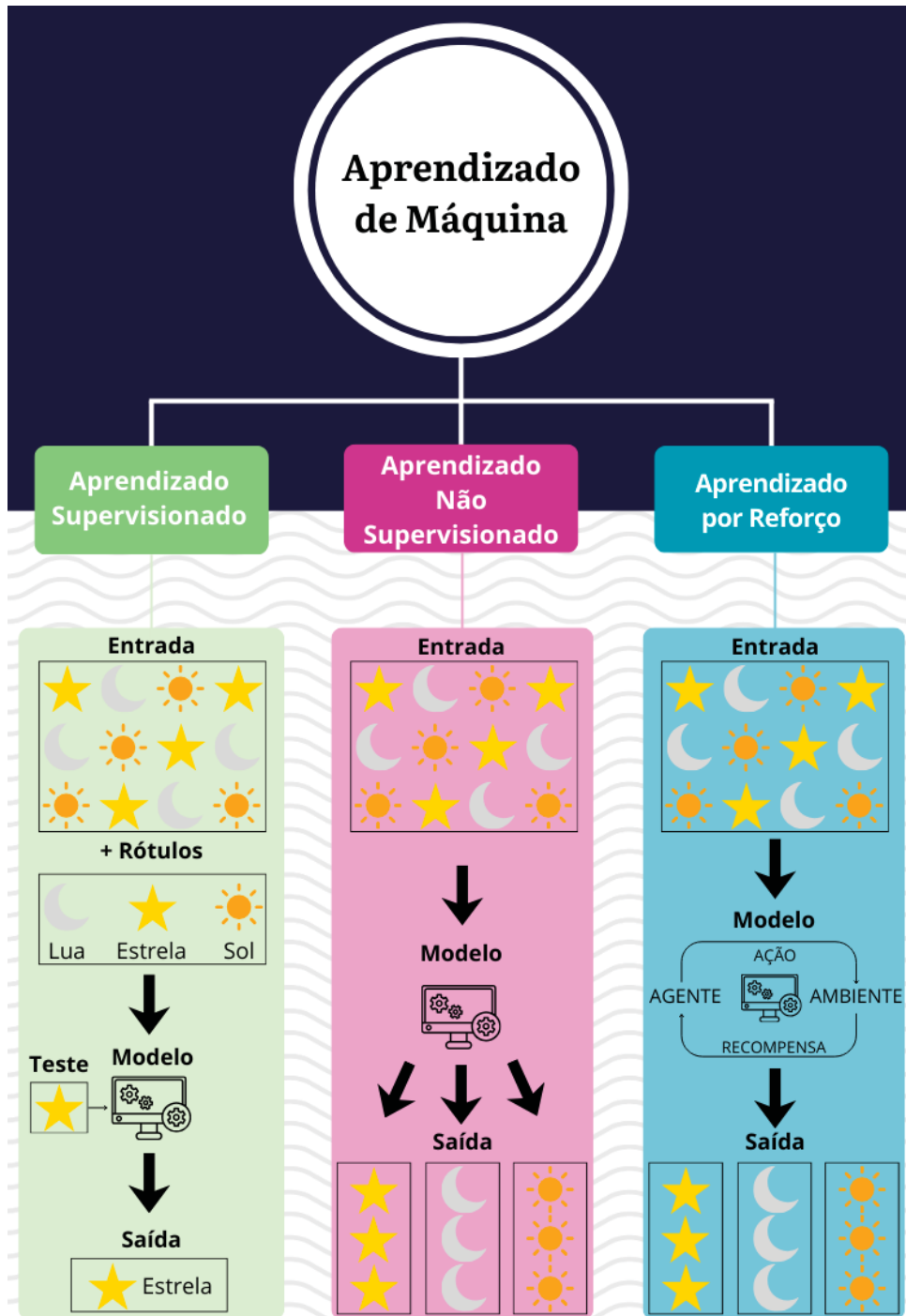


FIGURA 14 – Taxonomia dos principais paradigmas de Aprendizado de Máquina. O diagrama ilustra os diferentes fluxos de processamento de informação: (Esquerda) Aprendizado Supervisionado, onde o modelo é treinado com dados rotulados (entrada-saída); (Centro) Aprendizado Não Supervisionado, onde o algoritmo busca padrões e estruturas ocultas em dados não rotulados; e (Direita) Aprendizado por Reforço, onde um agente aprende uma política de ação através da interação com o ambiente, baseando-se em recompensas e punições.

Isso inclui desde métodos lineares estatisticamente robustos, como a Regressão Linear (para prever valores contínuos) e a Regressão Logística (para classificação), até abordagens não-lineares mais flexíveis. Entre os métodos clássicos de aprendizagem

supervisionada mais populares estão as Árvores de Decisão (*Decision Trees*) e as Máquinas de Vetor de Suporte (SVM, em inglês *Support Vector Machines*).

Estratégias mais avançadas, conhecidas como métodos de ensemble, como *Bagging*, *Random Forests* e *Boosting*, ganharam destaque por sua capacidade de combinar múltiplos modelos mais simples para obter uma predição final mais robusta e precisa. No extremo mais complexo desse espectro, estão as Redes Neurais Profundas (*Deep Learning*), que se mostraram vastamente superiores em tarefas de alta dimensionalidade, dominando áreas como a visão computacional, o reconhecimento de fala e o processamento de linguagem natural.

Independentemente do algoritmo escolhido, a literatura enfatiza que a qualidade e a quantidade de dados são o recurso mais crítico em qualquer projeto de AM. Em muitos casos, volumes maiores de dados de treinamento conseguem compensar o uso de algoritmos menos sofisticados, levando a um desempenho superior. Por outro lado, quando se lida com conjuntos de dados pequenos, torna-se essencial um trabalho cuidadoso de engenharia de atributos (*feature engineering*) e o uso de técnicas de redução de dimensionalidade para extrair o máximo de informação relevante.

Por fim, a implementação eficaz desses modelos, especialmente os de Aprendizado Profundo, depende de uma infraestrutura computacional avançada. Ferramentas de software como *TensorFlow* e o poder de processamento paralelo das GPUs (Unidades de Processamento Gráfico) são hoje essenciais para acelerar o treinamento e a experimentação. O impacto dessa tecnologia já está profundamente integrado ao cotidiano, em aplicações que vão desde a filtragem de spam e detecção de fraudes bancárias até sistemas de recomendação de produtos e a análise de documentos históricos, demonstrando a contínua expansão do AM em diversos setores.

### 3.4.3 O Algoritmo Floresta Aleatória (*Random Forest*)

Dentre os métodos de ensemble, a Floresta Aleatória (*Random Forest*) se destaca como um dos algoritmos de aprendizado de máquina mais poderosos e versáteis disponíveis atualmente. Conceitualmente, uma Floresta Aleatória é um conjunto de classificadores (ou regressores) do tipo Árvore de Decisão. O método se baseia no princípio da “sabedoria das multidões”: em vez de depender de um único modelo especialista (uma única árvore), que pode ser instável e propenso a superajuste, a Floresta Aleatória agrega as previsões de um grande número de árvores, determinando a classe final pela maioria dos votos, conforme esquematizado na Figura 15 (Géron, 2019).

Para garantir que as árvores do conjunto sejam diversificadas, o algoritmo utiliza uma técnica conhecida como *bagging* (do inglês *Bootstrap Aggregating*). No início do treinamento, múltiplos subconjuntos de dados são criados a partir do conjunto de

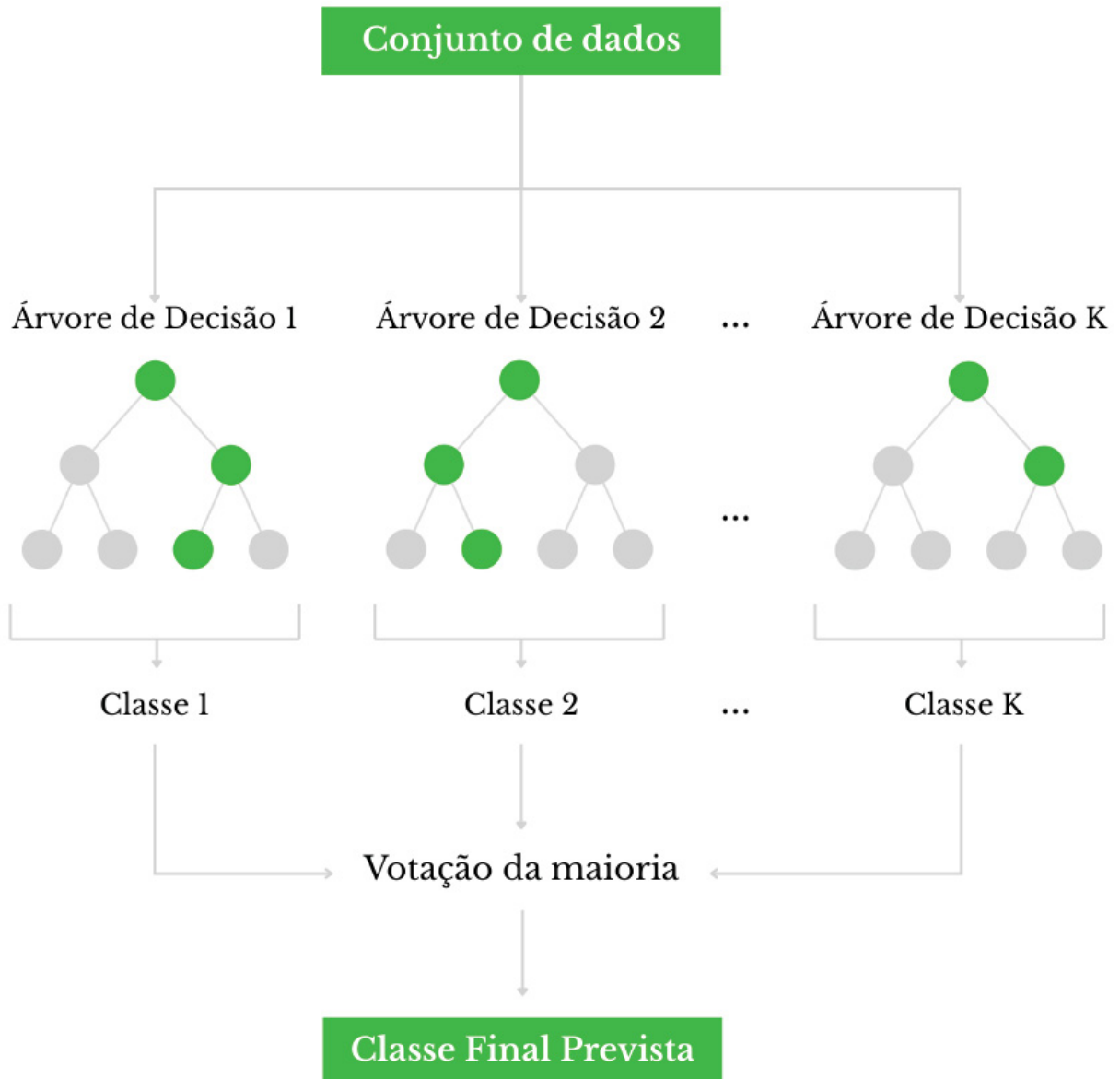


FIGURA 15 – Arquitetura de funcionamento do classificador Random Forest. O diagrama ilustra o fluxo de processamento de um método de *ensemble*: o conjunto de dados alimenta simultaneamente  $K$  Árvores de Decisão independentes. Cada árvore processa a entrada e gera sua própria previsão (Classe 1 a Classe K). O sistema agrega essas decisões individuais através de um mecanismo de Votação da Maioria para determinar a Classe Final Prevista, resultando em uma previsão estatisticamente mais robusta e estável do que a de um único estimador.

treinamento original através de amostragem bootstrap, ou seja, amostragem aleatória com reposição. Cada árvore de decisão individual na floresta é, então, treinada em um desses subconjuntos distintos, garantindo que cada modelo tenha uma visão ligeiramente diferente dos dados.

Contudo, a inovação fundamental das Florestas Aleatórias, que as distingue do bagging puro, é a introdução de uma segunda camada de aleatoriedade. Durante a construção de cada árvore, em cada nó de divisão, o algoritmo não considera todas as  $p$  características (preditores) disponíveis para encontrar o melhor corte. Em vez

disso, ele seleciona apenas um subconjunto aleatório de  $m$  características (onde  $m$  é tipicamente muito menor que  $p$ , como  $m \approx \sqrt{p}$  para classificação) e otimiza a divisão apenas dentro desse subconjunto.

Esse processo de seleção aleatória de características em cada nó tem uma consequência estatística crucial: ele decorrelaciona as árvores. Em um conjunto de dados com algumas características muito fortes, o bagging tradicional tenderia a produzir árvores muito semelhantes entre si, pois todas usariam as mesmas características dominantes nas primeiras divisões. Ao forçar cada divisão a considerar apenas um subconjunto de preditores, a Floresta Aleatória permite que características mais fracas, mas ainda assim relevantes, tenham um papel na construção do modelo, resultando em árvores mais independentes.

O benefício direto dessa decorrelação é uma redução substancial da variância do modelo final, sem um grande custo em termos de viés. A média das previsões de um grande número de árvores decorrelacionadas é muito mais estável e robusta do que a de árvores correlacionadas. Uma consequência prática disso é que as Florestas Aleatórias não sofrem de *overfitting* à medida que mais árvores são adicionadas. O erro de teste estabiliza rapidamente, permitindo o uso de uma quantidade substancial de estimadores ( $B = 500$  ou  $B = 1000$ , por exemplo) sem risco de superajuste.

Uma das vantagens práticas mais significativas do método é a estimativa de erro *Out-of-Bag* (OOB). Como cada árvore é treinada em uma amostra *bootstrap*, uma porção dos dados (aproximadamente 37%) é deixada de fora (OOB) para aquela árvore específica. Esses dados OOB podem ser usados como um conjunto de validação interno para aquela árvore. Ao agregar as previsões OOB para cada ponto de dados em toda a floresta, obtém-se uma estimativa de erro de generalização quase equivalente à validação cruzada, porém com um custo computacional muito menor (James *et al.*, 2023).

Apesar de serem frequentemente vistas como modelos caixa-preta, a Floresta Aleatória oferece uma métrica importante de interpretabilidade: a importância das características. Em implementações como a da biblioteca *Scikit-Learn*, isso é comumente calculado como a Redução Média da Impureza (MDI, em inglês *Mean Decrease in Impurity*). A métrica avalia o quão importante é uma característica ao somar a redução de impureza que ela proporciona em todos os nós onde é utilizada, ponderada pelo número de amostras que chegam a esses nós, e calculando a média sobre todas as árvores da floresta (Géron, 2019; Pedregosa *et al.*, 2011).

Em resumo, o sucesso da Floresta Aleatória reside em seu equilíbrio entre precisão, estabilidade e relativa facilidade de uso. O algoritmo é robusto a ruídos e demonstra excelente desempenho em dados de alta dimensionalidade (como em análises genômicas). Seus principais hiperparâmetros, como `n_estimators` (o número

de árvores) e `max_features` (o  $m$ ), são relativamente intuitivos de ajustar, tornando o método uma escolha padrão robusta tanto para tarefas de classificação quanto de regressão.

## 4 METODOLOGIA

Este estudo combinou técnicas de imageamento de cálcio in vivo com ensaios comportamentais para investigar a dinâmica neuronal do córtex Pré-Límbico durante interações sociais. Os dados experimentais aqui analisados foram obtidos e cedidos pelo grupo de *Neurobiology of Decision Making* do *Neuroscience Paris-Saclay Institute* (Neuro-PSI) (Lhopitallier *et al.*, 2022). O protocolo experimental foi estruturado em três estágios consecutivos: aquisição de dados em camundongos em livre movimento, processamento de sinais de fluorescência para extração de séries temporais de atividade neuronal e, finalmente, análise computacional baseada em correlações neurais e classificação de estados comportamentais via Aprendizado de Máquina.

Para sintetizar a abordagem técnica adotada neste estudo, o fluxo de trabalho completo, desde a aquisição experimental até a análise computacional, é apresentado esquematicamente na Figura 16.

O processo divide-se em três etapas fundamentais. A primeira etapa, Experimento (A), ilustra a obtenção de imagens de cálcio in vivo do Córtex Pré-Límbico utilizando um miniscópio acoplado à cabeça de camundongos em livre movimento. As gravações ocorreram simultaneamente à execução das tarefas comportamentais de Três Câmaras (3-CH) e Interação Social (SIT).

Na segunda etapa, Organização dos Dados (B), os registros brutos de fluorescência foram processados para identificar neurônios e extrair seus respectivos traços de atividade de cálcio ao longo do tempo.

Por fim, a etapa de Análise de Dados (C) descreve a seleção de atributos para o modelo preditivo baseada em métricas de conectividade. Foram testados dois critérios distintos: a Força Nodal Absoluta ( $S_j^{abs}$ ), que soma os módulos das correlações para medir a intensidade total da conectividade, e a Força Nodal Líquida ( $S_j^{net}$ ), que realiza a soma algébrica preservando o sinal das interações. Embora a métrica absoluta tenha identificado neurônios com alta e baixa conectividade global, os resultados obtidos com esses atributos apresentaram desempenho intermediário na identificação dos estados comportamentais. Em contraste, a seleção baseada na Força Nodal Líquida permitiu isolar os extremos funcionais da rede, neurônios com máxima correlação positiva (em vermelho) e máxima anticorrelação (em azul). Dado que esses dois grupos representaram, respectivamente, os melhores e piores desempenhos entre as quatro possibilidades testadas, a Força Nodal Líquida foi definida como o critério final para compor os atributos do classificador Random Forest.

Os resultados detalhados no corpo principal desta dissertação referem-se aos

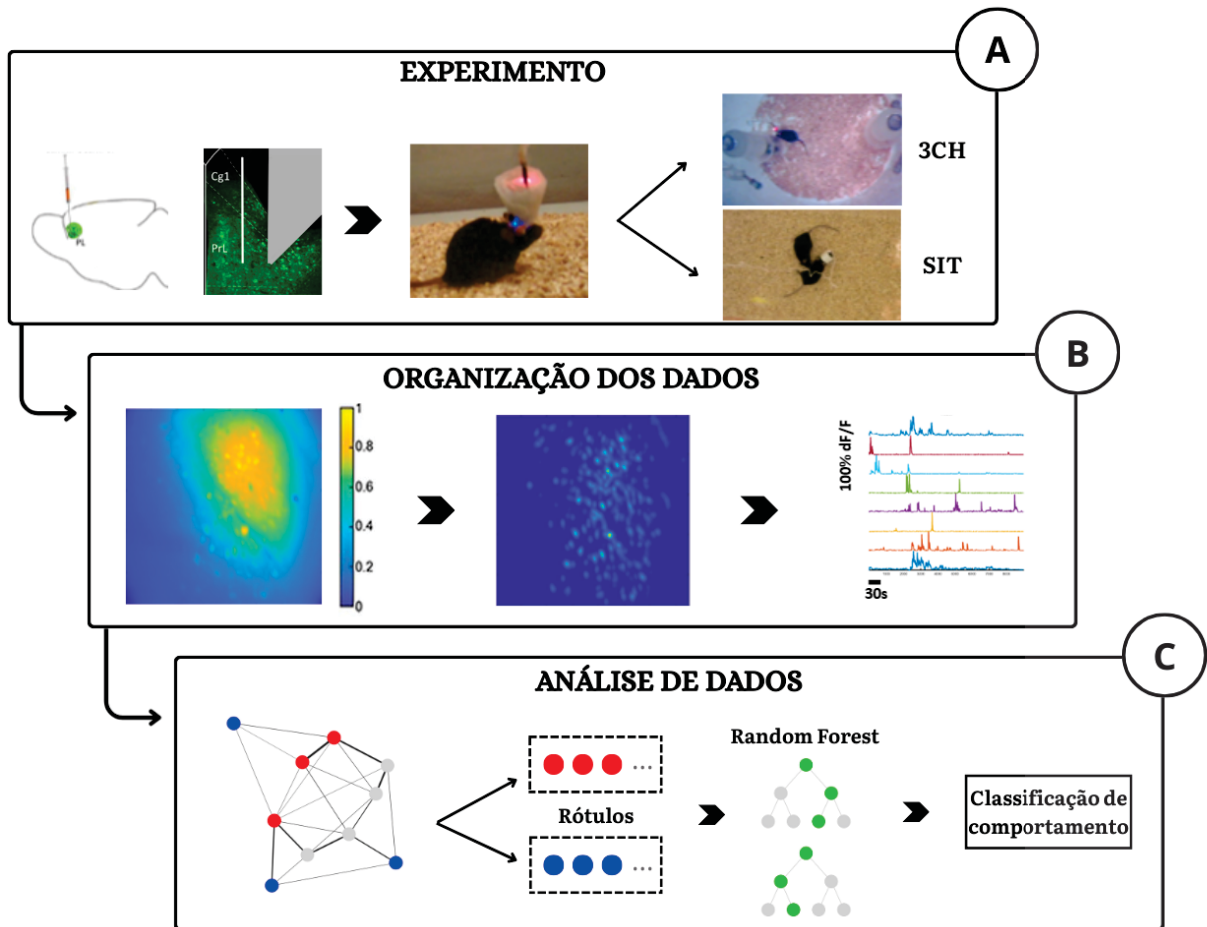


FIGURA 16 – Visão geral do fluxo de trabalho experimental e analítico. O estudo foi dividido em três etapas principais: (A) Experimento: Aquisição de imagens de cálcio *in vivo* do córtex prelimbico utilizando miniscópio em camundongos em livre movimento durante as tarefas de Três Câmaras (3CH) e Interação Social (SIT). (B) Organização dos Dados: Processamento dos registros brutos de fluorescência para identificação de neurônios individuais e extração dos traços temporais de atividade de cálcio. (C) Análise de Dados: Análise de correlação da atividade neuronal utilizada para seleção de atributos para o treinamento do classificador *Random Forest* na identificação de estados comportamentais.

testes realizados com os dados provenientes de um único animal (Animal 1), garantindo a consistência na demonstração do protocolo analítico. Para validar a generalização do método e a robustez dos achados, os dados dos demais sujeitos experimentais (Animais 2 e 3) foram processados sob o mesmo rigor metodológico, e suas respectivas estatísticas de acurácia e análises complementares encontram-se documentadas no Apêndice 1.

#### 4.1 SUJEITOS EXPERIMENTAIS E ASPECTOS ÉTICOS

Para a realização deste estudo, foram utilizados três camundongos machos homocigotos ChAT-IRES-Cre (referidos como camundongos ChAT-Cre), com três meses de idade. A escolha desta linhagem justifica-se pelo seu potencial como modelo para

estudar o papel do sistema colinérgico em comportamentos sociais. Como animais visitantes durante as tarefas sociais, foram utilizados outros seis camundongos machos da linhagem C57BL/6, também com três meses de idade.

Os animais foram mantidos inicialmente em gaiolas coletivas (4 por gaiola) para aclimação por duas semanas. As condições ambientais foram controladas com um ciclo claro-escuro de 12 horas e temperatura ambiente de  $21 \pm 1^\circ C$ , com água e comida disponíveis *ad libitum*. Para a realização dos testes comportamentais, os três animais foram mantidos em isolamento individual por um período mínimo de três semanas. É importante notar que tal protocolo de isolamento social atua como um estressor crônico, capaz de induzir modificações neuroplásticas e comportamentais específicas, caracterizando o estado do indivíduo como isolado durante as observações. Todos os procedimentos foram conduzidos em conformidade com as regulamentações locais e diretrizes da União Europeia (Diretiva 2010/63/EU) sob a referência de projeto ético APAFIS#22797.

#### 4.2 PROTOCOLO CIRÚRGICO E INSTRUMENTAÇÃO ÓPTICA

A preparação dos animais para a coleta de dados neuronais envolveu uma sequência de procedimentos cirúrgicos estereotáxicos. Inicialmente, buscou-se a expressão de uma sonda de cálcio (GCaMP6f) nas células piramidais do PFC. Para isso, camundongos anestesiados receberam uma infusão unilateral de vírus AAV9.CaMKII.GCaMP6f no Córtex Pré-Frontal direito. As coordenadas estereotáxicas utilizadas foram estabelecidas em relação ao bregma, ponto de união entre as suturas coronal e sagital do crânio utilizado como referência zero, resultando em: +2,34 mm anteroposterior, +0,4 mm mediolateral e -2 mm dorsoventral.

Após uma semana de recuperação, realizou-se uma segunda cirurgia para a implantação de um prisma óptico (4,3 mm de comprimento, 1 mm de diâmetro), visando o Córtex Pré-Límbico rostral e parte do córtex cingulado. A inserção do prisma foi realizada gradualmente ( $100 \mu m/min$ ) nas coordenadas: +2,84 mm anterior e +1,84 mm posterior em relação ao bregma.

Por fim, após mais um período de recuperação de sete dias, foi fixada uma base (*baseplate*) no crânio do animal para permitir o acoplamento do microscópio em miniatura (Miniscópio V2 UCLA). A verificação histológica da perfusão viral e do posicionamento do prisma foi realizada *post-mortem* através de cortes coronais de  $13 \mu m$  do PFC.

#### 4.3 PARADIGMAS COMPORTAMENTAIS E AQUISIÇÃO DE DADOS

Antes das sessões de teste, os animais passaram por um processo de habituação em campo aberto (50 cm x 50 cm) durante quatro sessões de 1 hora. Durante este período, os animais carregaram um falso miniscópio (*mock miniscope*) para se acostumarem com o peso e a presença do aparato. A coleta de dados ocorreu em dois paradigmas experimentais principais:

Antes das sessões de teste, os animais passaram por um processo de habituação em campo aberto (50 cm x 50 cm) durante quatro sessões de 1 hora. Durante este período, os animais carregaram um falso miniscópio (*mock miniscope*) para se acostumarem com o peso e a presença do aparato. Adicionalmente, os sujeitos experimentais foram submetidos a sessões de treino prévio nos aparatos de 3-CH e SIT. Esse treinamento visou a familiarização com a geometria da arena e, crucialmente, o estabelecimento de uma expectativa social; através de reforço por repetição, o camundongo hospedeiro aprende a associar a presença dos copos de Plexiglas (Copo Social e Copo Não-Social) à probabilidade de interação com um co-específico na tarefa 3-CH, garantindo que o comportamento observado durante o teste não seja meramente exploratório, mas sim pautado em uma antecipação cognitiva do estímulo social.

1. **Tarefa de Interação Social (SIT):** O animal hospedeiro foi colocado em uma arena para exploração livre por 30 minutos. Subsequentemente, um camundongo visitante foi introduzido por 8 minutos. A aquisição de dados (vídeo comportamental e miniscópio) foi realizada continuamente durante os últimos 2 minutos da fase de habituação e durante os 8 minutos de interação social, totalizando 10 minutos de registro por sessão. Os parâmetros analisados focaram na iniciativa do contato social.
2. **Tarefa das Três Câmaras (3-CH):** O teste utilizou uma arena contendo dois copos de Plexiglas em lados opostos. O protocolo consistiu em 10 minutos de habituação seguidos por 8 minutos de teste (escolha). Assim como no SIT, as gravações foram realizadas nos últimos 2 minutos da habituação e durante os 8 minutos de teste. Durante a habituação, os contatos com os copos vazios foram codificados para estabelecer uma linha de base espacial antes da introdução do estímulo. Na fase de teste, avaliou-se o contato com o copo contendo o animal visitante *versus* o copo vazio.

Em ambos os testes, a codificação manual do comportamento foi realizada utilizando o software Solomon Coder. A Tabela 1 detalha as variáveis comportamentais específicas extraídas para a análise de dados em cada paradigma.

TABELA 1 – Definição das variáveis comportamentais analisadas nas tarefas SIT e 3-CH.

<b>Tarefa</b>	<b>Rótulo</b>	<b>Descrição</b>
<b>SIT</b>	<i>CIH</i>	<i>Contact Initiated by Host</i> : Contato social iniciado ativamente pelo animal experimental (hospedeiro).
	<i>CIV</i>	<i>Contact Initiated by Visitor</i> : Contato social iniciado pelo animal visitante (conspécífico).
<b>3-CH</b>	<i>CONTATO SOCIAL</i>	Contato investigativo direto com o copo contendo o animal visitante.
	<i>CONTATO SOCIAL FUTURO</i>	Contato com o copo vazio durante a fase de habituação onde, na fase seguinte, o visitante será colocado.
	<i>CONTATO NÃO SOCIAL</i>	Contato investigativo com o copo contendo objeto ou vazio.
	<i>CONTATO NÃO SOCIAL FUTURO</i>	Contato com o copo vazio durante a fase de habituação que permanecerá vazio na fase seguinte.

#### 4.4 PROCESSAMENTO DE SINAIS DE CÁLCIO E SINCRONIZAÇÃO

Os sinais brutos de fluorescência foram extraídos utilizando o pipeline de código aberto MIN1PIPE (Lu *et al.*, 2018). A análise gerou arquivos contendo, para cada neurônio identificado, o traço de cálcio processado (após aprimoramento neural e correção de movimento) e sua respectiva binarização de eventos.

Um desafio técnico inerente ao sistema de miniscópio é a manutenção da sincronia perfeita com a câmera comportamental ao longo de gravações extensas. Do ponto de vista da dinâmica de sistemas, a sincronização aqui não se restringe apenas ao alinhamento de relógios de hardware, mas à garantia de coerência temporal entre a atividade dos osciladores neuronais e as transições de estado comportamental. Uma falha de milissegundos na amostragem poderia descaracterizar a relação de fase entre o disparo de cálcio e o início de um contato social. Uma sessão padrão de 10 minutos a 30 fps (em inglês, *frames per second*, em português, quadros por segundo) gera teoricamente 18.000 quadros. Para corrigir eventuais desvios de sincronização e alinhar a atividade neuronal com os registros comportamentais, realizou-se um *downsampling* computacional de ambos os sinais para 15 fps.

Essa etapa de reamostragem funciona como um filtro de dizimação que preserva a integridade da informação de baixa frequência dos sinais de cálcio, garantindo que a correlação calculada posteriormente reflita uma sincronia biológica real e não artefatos de amostragem. A sincronização efetiva permite que o sistema seja analisado como um conjunto de osciladores acoplados onde o ruído de fase é minimizado pelo

alinhamento rigoroso entre os quadros do miniscópio e os rótulos de vídeo. Esta etapa foi executada através de scripts personalizados em Python, resultando em uma série temporal alinhada de aproximadamente 9.000 quadros por sessão (ex: 8.996 quadros sincronizados efetivos).

## 4.5 ANÁLISE COMPUTACIONAL

A análise dos dados buscou identificar padrões de correlação neuronal e utilizar essas informações para classificar estados comportamentais.

### 4.5.1 Matrizes de Correlação

Para cada comportamento específico (como contato social ou não-social), calculou-se a matriz de correlação média de Pearson entre todos os pares de neurônios. Nesta análise, a correlação é utilizada como uma proxy estatística para a sincronização de fase no domínio do tempo; coeficientes elevados indicam neurônios que operam em regimes de sincronia, formando assembleias funcionais durante a interação social. O coeficiente de correlação  $r_{xy}$  foi determinado pela equação

$$r_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}, \quad (4.1)$$

na qual  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$  representam as séries temporais de atividade de dois neurônios distintos. Para filtrar ruídos e focar em correlações relevantes na visualização das matrizes, os coeficientes foram normalizados para Z-Score, sendo desconsiderados os valores situados no intervalo de ruído  $[-0, 3; 0, 3]$ . A escolha desse limiar baseou-se em uma análise de sensibilidade que buscou otimizar a relação sinal-ruído dos conjuntos neuronais, garantindo que apenas interações moderadas e fortes, com maior relevância estatística, fossem consideradas para a extração das métricas de força nodal. Esse procedimento é fundamental para isolar a estrutura funcional da rede frente às flutuações estocásticas da atividade neural basal, permitindo que o algoritmo de classificação foque nos padrões de ativação coletiva que efetivamente definem as fronteiras de decisão entre os estados comportamentais.

A fim de dissecar a topologia funcional da rede, quantificou-se a influência de cada neurônio utilizando a métrica de Força Nodal Líquida ( $S_j^{net}$ ). Esta métrica quantifica a polaridade da influência de um neurônio sobre os demais, preservando o sinal das interações (excitatórias ou inibitórias), sendo calculada pela soma algébrica das correlações

$$S_j^{net} = \sum_{i \neq j} r_{ij}. \quad (4.2)$$

Com base nessa métrica, os neurônios foram segregados em dois grupos funcionais distintos para a análise de classificação. Para cada categoria, selecionaram-se os 10 neurônios mais representativos ( $N = 10$ ):

- **Maior Correlação Positiva (Vermelho):** Neurônios com maior influência positiva, aqueles com os maiores valores de  $S_j^{net}$  (positivos), apresentando um perfil predominantemente excitatório e indicando alta cooperatividade com a média da rede.
- **Maior Anticorrelação (Azul):** Neurônios com maior influência negativa, aqueles com os menores valores de  $S_j^{net}$  (negativos), indicando um papel predominantemente inibitório ou de oposição de fase na dinâmica global.

#### 4.5.2 Análise Temporal: Magnitude de Correlação

Para investigar a estrutura temporal das interconexões neuro-comportamentais, implementou-se o cálculo da Magnitude de Correlação Global. Este método permite avaliar como a força das interdependências no sistema evolui em função da escala de observação temporal, permitindo identificar regimes de organização dinâmica.

A base de dados é estruturada em uma matriz  $M_{n \times c}$ , onde o eixo das abscissas representa os neurônios e o das ordenadas os comportamentos observados. Cada elemento desta matriz contém os valores de fluorescência correspondentes à atividade neuronal (transientes de cálcio) quando associados a um estado comportamental específico.

Considerando que a taxa de amostragem do miniscópio é de 15 frames por segundo (fps), o protocolo de análise consistiu nos seguintes passos:

1. **Janelamento Variável:** Os dados foram segmentados em janelas temporais de tamanho  $\tau$ , com  $\tau \in [5, 60]$  frames (aproximadamente 0,33 s a 4,0 s).
2. **Cálculo da Matriz de Correlação:** Para cada janela  $\tau$ , gerou-se uma matriz de correlação entre todos os componentes.
3. **Quantificação da Magnitude ( $S_\tau$ ):** A força global de interconexão para cada escala de tempo foi obtida através da soma dos módulos de todos os elementos da matriz de correlação, conforme a equação

$$S_\tau = \sum_{i,j} |r_{ij}|. \quad (4.3)$$

4. **Iteração:** O processo foi repetido de forma incremental para cada valor de frame no intervalo definido.

Os valores de  $S_\tau$  obtidos para cada janela foram compilados em um gráfico de dispersão (pontos). Nesta representação, o eixo horizontal indica o tamanho da janela temporal ( $\tau$ ) e o eixo vertical a magnitude da correlação resultante. Valores elevados de  $S_\tau$  indicam escalas onde os comportamentos e a atividade neuronal são altamente interdependentes e organizados, enquanto valores baixos sugerem independência funcional.

#### 4.5.3 Classificação via *Random Forest* (RF)

Para a classificação dos comportamentos baseada puramente na atividade neuronal, utilizou-se o algoritmo *Random Forest* (Floresta Aleatória). O RF é um método de aprendizado supervisionado ensemble, que agrega múltiplas árvores de decisão para produzir uma predição mais robusta e reduzir o risco de *overfitting* (sobreajuste).

O protocolo de Aprendizado e Máquina seguiu os seguintes passos:

1. **Divisão dos Dados:** 70% dos dados de cada camundongo foram utilizados para treinar o modelo, e os 30% restantes foram reservados para testar a acurácia.
2. **Otimização:** Os hiperparâmetros (como critério de divisão, número de árvores e profundidade) foram otimizados utilizando a ferramenta GridSearchCV da biblioteca scikit-learn (Pedregosa *et al.*, 2011).
3. **Validação:** O classificador, composto por 100 árvores de decisão, foi treinado e testado em um ciclo repetido 50 vezes para garantir robustez estatística. O desempenho foi avaliado através de matrizes de confusão médias geradas a partir dessas repetições.

A entrada para o algoritmo consistiu na atividade dos quatro grupos de dez neurônios identificados anteriormente, permitindo testar qual subconjunto neuronal possuía maior poder preditivo sobre o comportamento do animal.

#### 4.5.4 Análise Estatística e Comparativa

A avaliação da relevância funcional dos diferentes grupos neuronais foi realizada através de uma análise estatística comparativa das acurácias obtidas. Para determinar se as diferenças de desempenho entre os subconjuntos eram significativamente distintas, aplicou-se o teste t de Student para amostras independentes com a correção de Welch. Diferente do teste t convencional, a correção de Welch não assume a homocedasticidade (igualdade de variâncias) entre os grupos, sendo o método mais adequado para dados provenientes de comportamentos com tempos de execução desbalanceados, garantindo maior confiabilidade na comparação de amostras com N variados.

O nível de significância adotado para as comparações pareadas foi de  $\alpha = 0,05$ . O processamento estatístico foi automatizado através de rotinas em linguagem Python, utilizando a biblioteca SciPy, permitindo a validação sistemática de que os neurônios selecionados via métricas de força nodal possuíam, de fato, conteúdos informacionais distintos para a decodificação do comportamento social.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A base de dados analisada neste estudo compreende um total de nove sessões experimentais, subdivididas entre os paradigmas de Três Câmaras (3-CH) e Interação Social (SIT). Em cada sessão, a atividade de aproximadamente cem neurônios foi registrada simultaneamente por um período de cerca de 10 minutos. As imagens de vídeo do miniscópio, originalmente capturadas a 30 quadros por segundo (fps), foram subamostradas para 15 fps para permitir o alinhamento temporal preciso com o rastreamento comportamental.

Para fins de clareza expositiva nesta dissertação, apresentamos os resultados detalhados de dois casos representativos dentre as nove sessões: o Experimento 2 (protocolo S1C29-3CH1) e o Experimento 6 (protocolo S1C29-SIT1). Ressalta-se que as análises correspondentes às demais sessões foram realizadas seguindo o mesmo rigor metodológico e seus resultados completos encontram-se disponíveis no apêndice 1 (material suplementar) deste trabalho.

É importante notar que, durante a triagem dos dados, comportamentos considerados não relacionados ao PFC, como locomoção, foram excluídos da análise para focar especificamente nas interações que hipotetizamos estarem codificadas nesta região cerebral.

### 5.1 TOPOLOGIA DAS CORRELAÇÕES NEURONAIS

A primeira etapa da análise consistiu em mapear a estrutura funcional da rede neuronal. A Figura 17 exibe as matrizes de correlação média de Pearson geradas para os experimentos selecionados, organizadas de acordo com as tarefas e comportamentos específicos.

O cálculo da correlação  $r_{xy}$  entre pares de neurônios revelou padrões estruturais distintos para cada atividade. As matrizes foram filtradas para exibir apenas correlações relevantes, deixando em branco valores no intervalo de ruído  $[-0,3; 0,3]$  (*Z-Score*). As correlações positivas são mostradas em vermelho e as negativas (anticorrelações) em azul. Na Tarefa 3-CH, as matrizes representam os comportamentos de: (a) Contato Social, (b) Contato Social Futuro, (c) Contato Não Social e (d) Contato Não Social Futuro. Para a tarefa SIT, são apresentadas as matrizes de (e) CIH e (f) CIV.

Observa-se que cada comportamento possui um padrão estrutural específico, embora não haja uma configuração visualmente idêntica que se repita entre sessões diferentes. Contudo, a presença de grupos de neurônios correlacionados e anticorrelacionados é uma característica constante da rede, indicando que a topologia funcional é

modulada pelo contexto comportamental.

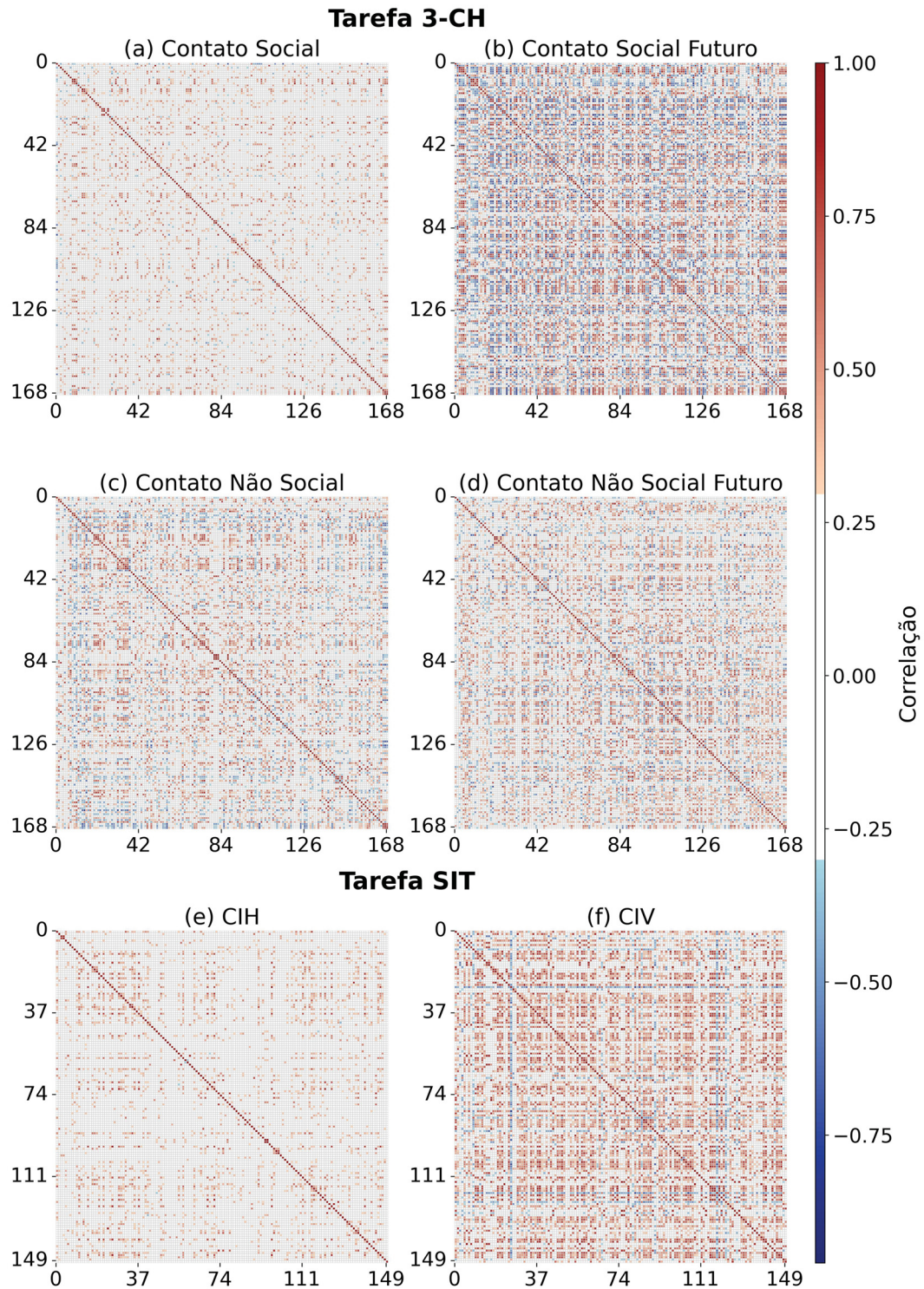


FIGURA 17 – Matrizes de correlação para cada comportamento calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor. Os eixos horizontal e vertical representam os índices dos neurônios registrados simultaneamente na rede. A escala de cores indica o grau de interdependência linear entre os pares neuronais: tons de vermelho representam correlações positivas, enquanto tons de azul indicam anticorrelações. Valores situados no intervalo de ruído  $[-0,3; 0,3]$  (Z-score) foram desconsiderados para evidenciar a estrutura funcional da rede. Dados correspondentes aos Experimentos 2 e 6.

Para quantificar a influência de cada célula na dinâmica da rede, utilizou-se a métrica de Força Nodal Líquida ( $S_j^{net}$ ). Esta medida preserva o sinal das interações, permitindo identificar o papel funcional de cada unidade através do balanço entre correlações e anticorrelações.

Nessa análise, os neurônios foram segregados em dois grupos funcionais distintos com base na polaridade de suas interações:

- **Maior Correlação Positiva (Vermelho):** Compreende os neurônios com os maiores valores de força nodal líquida positiva. Estes elementos representam o núcleo de *sincronização* e coordenação sinérgica, disparando predominantemente em fase com a dinâmica global da população.
- **Maior Anticorrelação (Azul):** Compreende os neurônios com os valores mais negativos de força nodal líquida. Estes elementos exercem um papel de *segregação* ou modulação funcional, operando em oposição de fase ou exercendo influência inibitória sobre a atividade coletiva da rede.

Com base nestas definições, os valores foram normalizados no intervalo  $[-1, 1]$ , fornecendo uma escala onde a magnitude indica a importância do neurônio para a rede e o sinal explicita a direção de sua influência. Para a análise de classificação subsequente, selecionaram-se os 10 neurônios mais representativos ( $N = 10$ ) de cada extremo da distribuição, totalizando os vetores de características utilizados no modelo. A Figura 18 ilustra essa distribuição e o destaque das células selecionadas para os experimentos analisados. A disposição das subfiguras segue a mesma organização estabelecida anteriormente, com os índices (a), (b), (c) e (d) referentes aos comportamentos da Tarefa 3-CH e os índices (e) e (f) referentes à tarefa SIT. Esta padronização permite observar como a métrica de força nodal líquida se comporta em diferentes contextos experimentais, mantendo a consistência visual para a identificação dos neurônios com maior influência positiva (vermelho) e negativa (azul).

A análise da Figura 18 permite identificar uma organização funcional heterogênea no PFC durante as tarefas experimentais. Os neurônios destacados em vermelho, com valores de força nodal líquida próximos a 1.0, atuam como centros de sincronização coletiva, disparando em fase com a dinâmica global da rede e mantendo a coesão do estado populacional. Em contrapartida, os neurônios destacados em azul apresentam uma polaridade oposta, com valores próximos a -1.0, o que caracteriza um perfil de segregação funcional. Essas células operam em oposição de fase ou sob influência inibitória em relação ao núcleo síncrono da rede, sugerindo que a codificação da informação social não depende de um regime único de atividade, mas do contraste dinâmico entre esses subconjuntos. Observa-se que a distribuição desses extremos

varia conforme o contexto comportamental, indicando que a rede recruta diferentes assembleias de neurônios para estruturar a resposta do animal frente a estímulos sociais e não sociais.

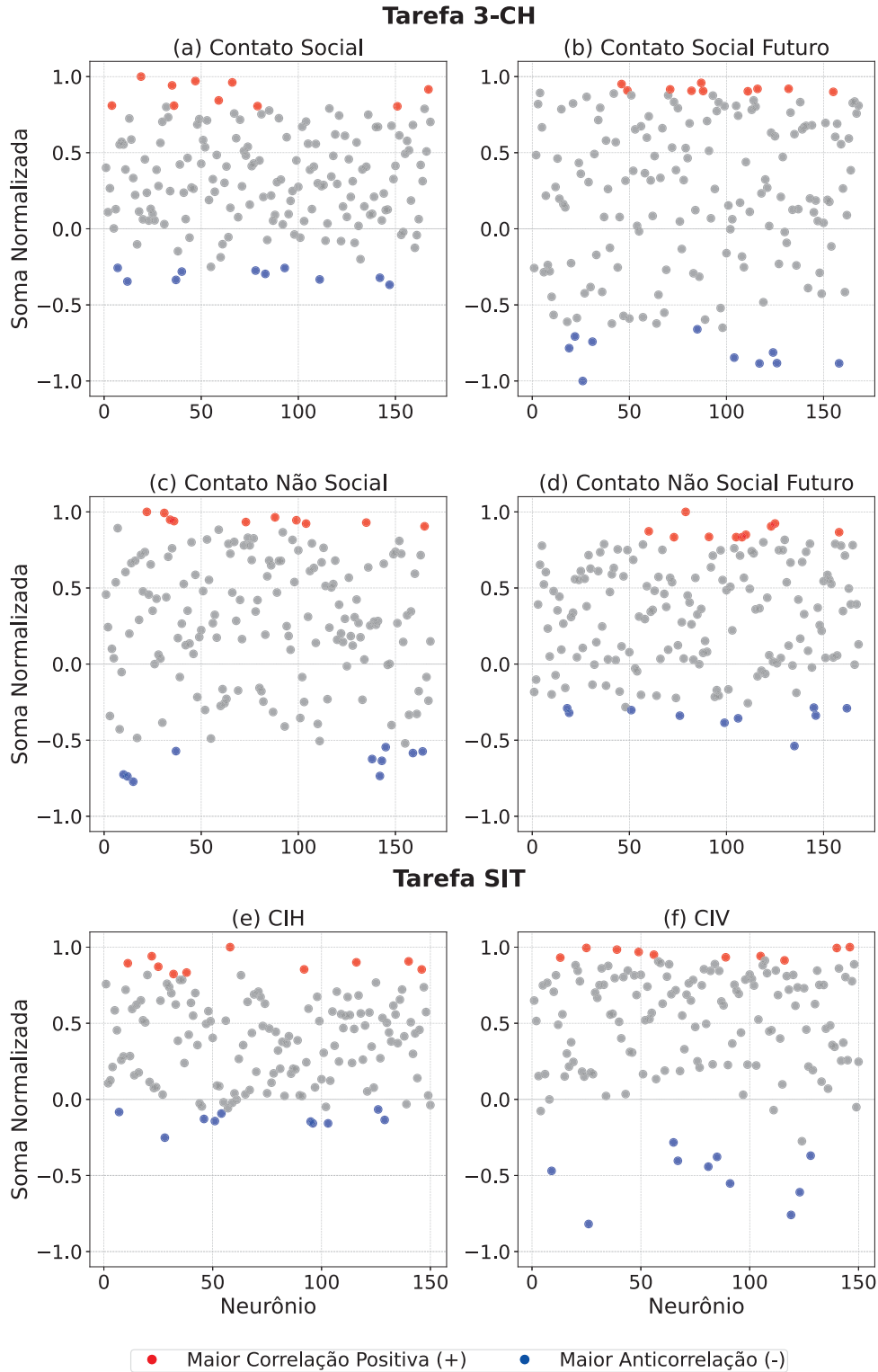


FIGURA 18 – Distribuição da Força Nodal Líquida normalizada por neurônio. Os pontos destacados em vermelho representam os 10 neurônios com maior correlação positiva e os pontos em azul os 10 com maior anticorrelação, para os Experimentos 2 e 6.

## 5.2 DINÂMICA TEMPORAL E ESTRUTURA DE INTERDEPENDÊNCIA

Para investigar a evolução temporal das interconexões neuro-comportamentais, analisou-se a Magnitude de Correlação Global em função da escala de observação. O objetivo central desta análise, consolidada na Figura 19, é identificar se a organização do sistema apresenta escalas temporais preferenciais e validar se tais padrões são inerentes à dinâmica biológica ou meros artefatos estatísticos.

A magnitude da correlação, definida pela soma dos módulos dos coeficientes de correlação ( $S_\tau$ ), atua como um descritor da ordem e do acoplamento global do sistema. Observa-se que, conforme o tamanho da janela temporal ( $\tau$ ) aumenta de 5 para 60 frames, a magnitude da correlação descreve uma trajetória ascendente. Este comportamento é esperado, uma vez que janelas mais longas permitem a integração de estados dinâmicos mais persistentes, capturando dependências que não são visíveis em escalas de milissegundos.

No entanto, a taxa de crescimento dessa correlação não é linear. Nota-se uma região de forte incremento (autocorrelação) nos primeiros 15 frames ( $\approx 1$  segundo), seguida por uma mudança de inclinação (inflexão). Esse fenômeno sugere que o sistema atinge um regime de saturação de informação ou transição de estado logo após o primeiro segundo de observação, marcando a janela de tempo necessária para que a rede estabilize uma representação funcional.

A robustez destes achados foi testada através de um controle estatístico via embaralhamento (*shuffling*) dos dados. A Figura 19 estabelece o contraste entre os dados originais (linha sólida azul) e os dados embaralhados (linha pontilhada inferior).

Os resultados demonstram que a magnitude da correlação nos dados experimentais é significativamente superior à dos dados aleatorizados em todas as escalas analisadas. O processo de embaralhamento destrói a estrutura de dependência temporal e a causalidade biológica, resultando em uma perda quase total de magnitude. Esse distanciamento entre as curvas confirma que as correlações detectadas são propriedades emergentes da rede, refletindo uma dependência temporal genuína entre os disparos neuronais e os estados comportamentais.

Um achado físico fundamental desta análise é a coincidência das escalas temporais. As linhas tracejadas verticais na Figura 19 demarcam a duração média dos episódios comportamentais registrados. Observa-se que estas durações coincidem precisamente com a região de inflexão das curvas de correlação.

Esta correspondência sugere que a dinâmica da rede neuronal no córtex pré-frontal medial (mPFC) opera em uma escala de processamento de informação que é isomórfica à escala das decisões comportamentais. Em outras palavras, o tempo que a rede leva para organizar seus padrões de correlação é o mesmo tempo em que o

animal sustenta ou transita entre comportamentos, corroborando a hipótese de que o mPFC provê o suporte dinâmico para a estruturação temporal do comportamento.

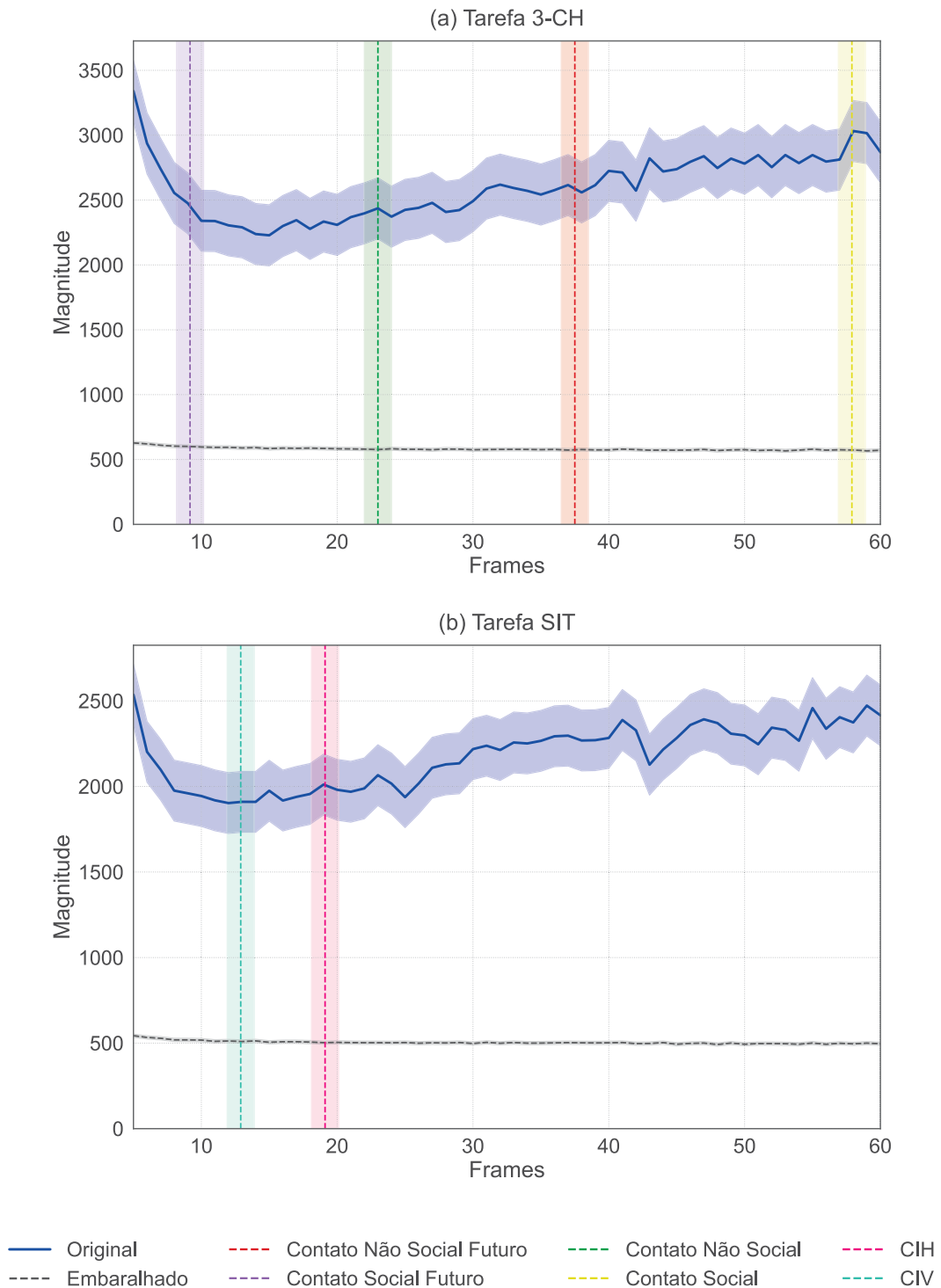


FIGURA 19 – Magnitude da correlação global em função do tamanho da janela temporal. A linha sólida representa os dados originais e a linha pontilhada os dados embaralhados. As linhas verticais indicam as durações médias dos comportamentos, evidenciando a convergência entre a escala de processamento neuronal e a execução comportamental.

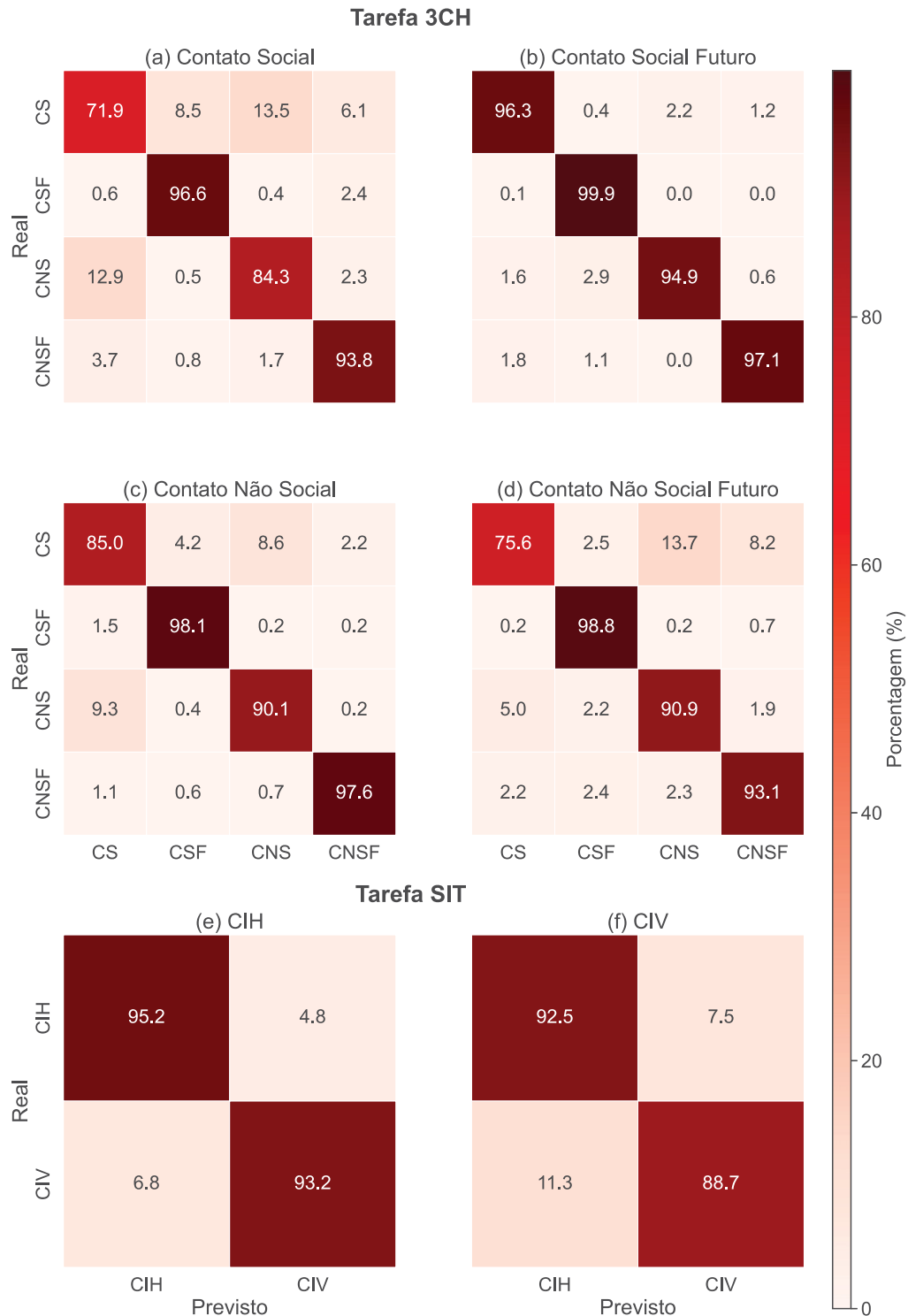
### 5.3 DECODIFICAÇÃO DE ESTADOS VIA *RANDOM FOREST*

A validação da hipótese de que a atividade neural codifica o comportamento foi realizada através do algoritmo *Random Forest*. O modelo, baseado em aprendizado de conjunto, agrega múltiplas árvores de decisão para aumentar a precisão preditiva.

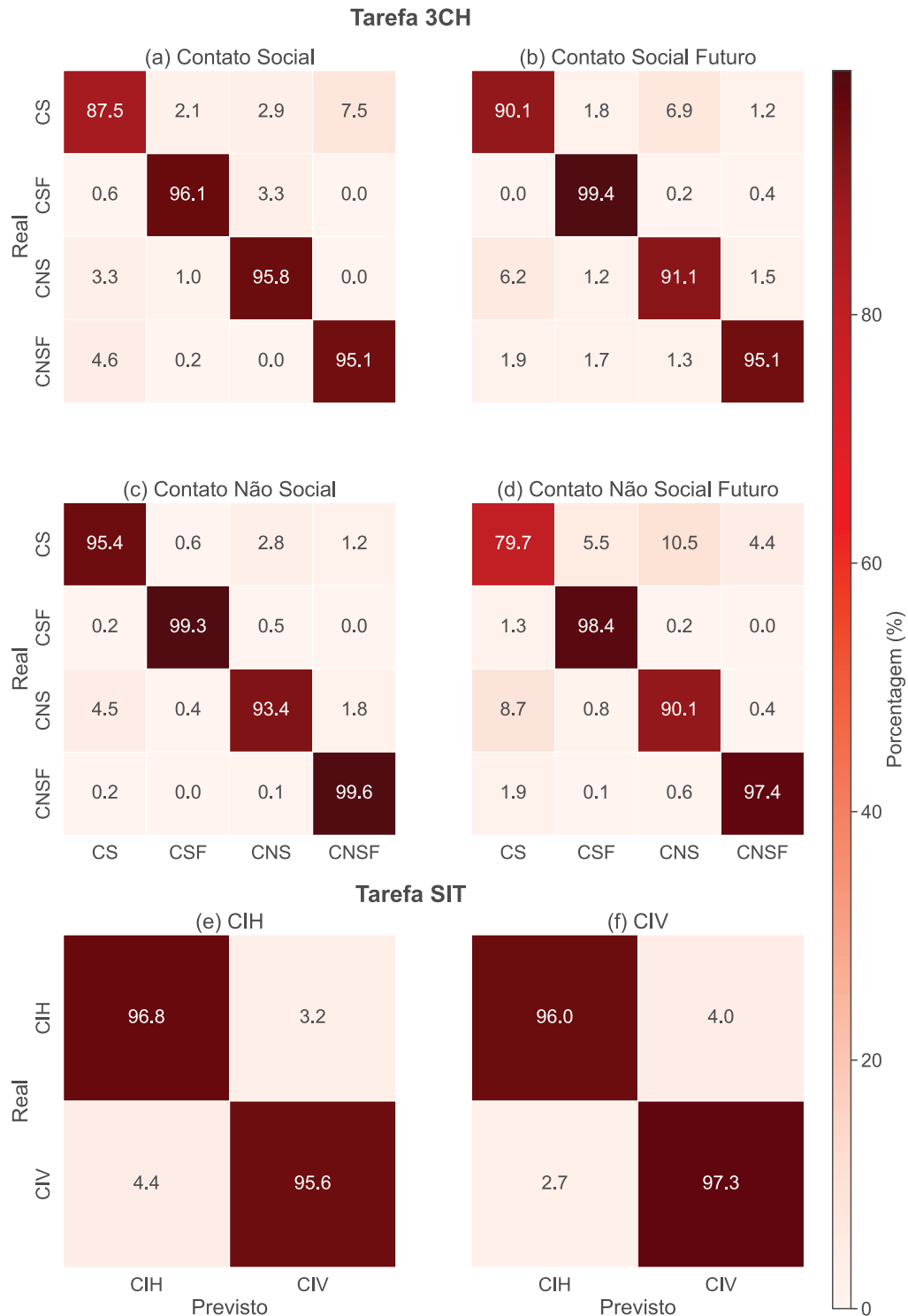
As Figuras 20 e 21 apresentam as matrizes de confusão resultantes para os Experimentos 2 e 6. A organização dessas figuras utiliza um sistema de índices (a-f) que espelha rigorosamente as etapas anteriores da análise, garantindo que cada matriz de confusão corresponda exatamente ao mesmo contexto comportamental e ao mesmo conjunto de células identificados na análise de rede. Assim, os painéis (a), (b), (c) e (d) detalham o desempenho do classificador nos comportamentos da Tarefa 3-CH, enquanto os painéis (e) e (f) referem-se aos contextos da tarefa SIT.

Cada matriz individual é o resultado de um teste de classificação independente, onde as variáveis de entrada foram restritas aos 10 neurônios que apresentaram os valores mais extremos de Força Nodal Líquida para aquele comportamento específico, conforme mapeado na Figura 18. Dessa forma, a Figura 20 consolida os resultados de acurácia obtidos exclusivamente com os neurônios do grupo de maior correlação positiva (vermelho), ao passo que a Figura 21 isola e avalia o poder preditivo dos neurônios do grupo de maior anticorrelação (azul). Essa estrutura permite comparar diretamente como a informação funcional, segregada por polaridade de influência, contribui para a distinção dos estados comportamentais em cada tarefa.

Observa-se que o algoritmo atinge acurácias elevadas, frequentemente acima de 80% e, em vários casos, superando 95%. Este resultado indica que a codificação de comportamentos sociais e não-sociais no mPFC é robusta e distribuída espacialmente na rede. O fato de ser possível decodificar o estado comportamental utilizando tanto o núcleo de neurônios de alta sincronização (Fig. 20, grupo vermelho) quanto o grupo de neurônios com forte anticorrelação (Fig. 21, grupo azul) sugere que a rede opera através de múltiplos canais de informação complementares. Enquanto o primeiro grupo pode representar o comando coordenado da rede, o segundo parece codificar estados comportamentais através de padrões de segregação funcional, indicando que a oposição de fase e a inibição estruturada são tão informativas para o classificador quanto a atividade síncrona.



**FIGURA 20** – Matrizes de confusão para a classificação de comportamentos utilizando o núcleo de maior correlação positiva (Grupo Vermelho). Os painéis (a)-(d) referem-se à tarefa 3-CH, abrangendo os contextos de Contato Social (CS), Contato Social Futuro (CSF), Contato Não Social (CNS) e Contato Não Social Futuro (CNSF). Os painéis (e)-(f) referem-se à tarefa SIT, distinguindo entre Contato Iniciado pelo Hospedeiro (CIH) e Contato Iniciado pelo Visitante (CIV). O modelo *Random Forest* foi treinado utilizando como variáveis de entrada exclusivamente os 10 neurônios com maior força nodal líquida positiva, identificados na Figura 18. As matrizes demonstram o desempenho do classificador através da relação entre as classes reais e as previstas, apresentando acurácias elevadas que variam entre 86% e 97%, confirmando a robustez da sincronização positiva na codificação desses estados.



**FIGURA 21** – Matrizes de confusão para a classificação de comportamentos utilizando o grupo de maior anticorrelação (Grupo Azul). Os painéis (a)-(d) detalham o desempenho na tarefa 3-CH para os contextos de Contato Social (CS), Contato Social Futuro (CSF), Contato Não Social (CNS) e Contato Não Social Futuro (CNSF). Os painéis (e)-(f) apresentam os resultados para a tarefa SIT, discriminando entre Contato Iniciado pelo Hospedeiro (CIH) e Contato Iniciado pelo Visitante (CIV). O modelo *Random Forest* utilizou como variáveis de entrada os 10 neurônios com os valores mais negativos de força nodal líquida, conforme identificados na Figura 18. As matrizes correlacionam as classes reais com as previsões do modelo, apresentando acurácias que variam entre 91% e 96%, evidenciando que a dinâmica de oposição de fase possui alto valor preditivo para a decodificação do comportamento social.

A Tabela 2 apresenta as estatísticas de acurácia obtidas para as nove sessões experimentais, discriminadas pelos dois grupos funcionais de neurônios selecionados. Para a interpretação dos códigos experimentais, ressalta-se que o algarismo final (ex: o “3” em S2C29-3CH3) identifica o camundongo específico utilizado na sessão, no total foram usados 3 camundongos diferentes. As imagens presentes na seção resultados referentes aos experimentos [2] S1C29-3CH1 e [6] S1C29-SIT1 são dados do mesmo camundongo (1). Uma análise comparativa dos resultados revela um fenômeno consistente sobre a natureza da codificação neuronal nesta rede.

Observa-se que o grupo de Anticorrelação frequentemente atinge acurácias superiores às do grupo de Sincronização. Na Tabela 2, os valores em negrito destacam a maior acurácia obtida em cada comparação direta entre as duas categorias de neurônios para um mesmo comportamento. Nota-se que o grupo de maior anticorrelação detém a maioria dos valores máximos de desempenho. Este padrão é evidente nas duas tarefas, onde os neurônios anticorrelacionados superam sistematicamente os neurônios de sincronização em diversos experimentos.

Sob a ótica da Teoria da Informação, este resultado sugere que a sincronização massiva carrega um alto grau de redundância. Embora os neurônios positivamente correlacionados sejam vitais para manter a coesão do estado global da rede, seus disparos tendem a ser repetitivos, adicionando pouca informação incremental para a distinção entre comportamentos. Por outro lado, os neurônios Anticorrelacionados fornecem o contraste necessário para a discriminação: ao silenciarem enquanto a rede ativa (ou vice-versa), eles definem as fronteiras de decisão dos estados neurais. A superioridade preditiva deste grupo indica que a informação mais rica sobre o contexto social reside na dinâmica de segregação funcional, onde um pequeno subconjunto de apenas 10 células é suficiente para decodificar comportamentos complexos com alta precisão. Essa pluralidade de respostas funcionais em grupos estruturalmente distintos reflete a degenerescência intrínseca do sistema nervoso, uma propriedade fundamental que permite ao circuito alcançar estados informacionais estáveis e resilientes por meio de diferentes combinações de atividades neurais.

É imperativo ressaltar, contudo, que a relevância de um neurônio para o desempenho do algoritmo de aprendizado de máquina (acurácia preditiva) não é necessariamente idêntica à sua relevância fisiológica no processamento biológico. Enquanto a máquina prioriza o contraste informacional das anticorrelações para minimizar o erro de classificação, o papel fisiológico dessas unidades pode residir na modulação fina e no controle do ruído da rede, demonstrando que o que é mais “informativo” para um classificador automatizado reflete uma assinatura de estado, e não necessariamente o driver biológico primário do comportamento. Este fenômeno aponta para uma estratégia de codificação eficiente e esparsa, onde elementos que operam em contra-fase definem

as fronteiras de decisão do sistema.

TABELA 2 – Acurácias obtidas nas tarefas 3-CH e SIT utilizando subconjuntos de neurônios com maior correlação e anticorrelação via *Random Forest*.

<b>Parte A: Tarefa 3-CH</b>					
<b>Comportamento</b>	[1]	[2]	[3]	[4]	
<i>Neurônios com maior correlação positiva</i>					
Contato Social	0.78 ± 0.03	0.86 ± 0.04	<b>0.86 ± 0.02</b>	<b>0.98 ± 0.00</b>	
Contato Social Futuro	0.75 ± 0.02	<b>0.97 ± 0.02</b>	0.80 ± 0.02	<b>0.99 ± 0.00</b>	
Contato Não Social	0.83 ± 0.02	0.92 ± 0.02	<b>0.85 ± 0.02</b>	<b>0.98 ± 0.01</b>	
Contato Não Social Futuro	0.83 ± 0.02	0.89 ± 0.03	<b>0.89 ± 0.02</b>	<b>0.98 ± 0.00</b>	
<i>Neurônios com maior anticorrelação</i>					
Contato Social	<b>0.95 ± 0.01</b>	<b>0.93 ± 0.03</b>	0.84 ± 0.03	<b>0.98 ± 0.00</b>	
Contato Social Futuro	<b>0.93 ± 0.01</b>	0.93 ± 0.03	<b>0.85 ± 0.02</b>	<b>0.99 ± 0.00</b>	
Contato Não Social	<b>0.94 ± 0.01</b>	<b>0.96 ± 0.02</b>	0.84 ± 0.02	<b>0.98 ± 0.00</b>	
Contato Não Social Futuro	<b>0.93 ± 0.01</b>	<b>0.91 ± 0.03</b>	0.86 ± 0.02	<b>0.98 ± 0.00</b>	
<b>Parte B: Tarefa SIT</b>					
<b>Comportamento</b>	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]
<i>Neurônios com maior correlação positiva</i>					
CIH	0.93 ± 0.05	0.94 ± 0.02	0.92 ± 0.01	0.94 ± 0.01	<b>0.96 ± 0.03</b>
CIV	0.94 ± 0.03	0.90 ± 0.04	0.88 ± 0.01	0.95 ± 0.02	0.96 ± 0.03
<i>Neurônios com maior anticorrelação</i>					
CIH	<b>0.96 ± 0.03</b>	<b>0.96 ± 0.02</b>	<b>0.98 ± 0.00</b>	<b>0.98 ± 0.01</b>	<b>0.96 ± 0.03</b>
CIV	<b>0.97 ± 0.02</b>	<b>0.96 ± 0.01</b>	<b>0.98 ± 0.00</b>	<b>0.97 ± 0.01</b>	<b>0.97 ± 0.03</b>

Os valores representam a acurácia média ± desvio padrão.

**Negrito:** Indica a maior acurácia obtida para cada comportamento, comparando-se os resultados entre o grupo de neurônios com maior correlação positiva e o grupo com maior anticorrelação.

**Experimentos:** [1] S2C29-3CH3; [2] S1C29-3CH1; [3] S2C29-3CH1; [4] S2C29-3CH2; [5] S2C29-SIT3; [6] S1C29-SIT1; [7] S1C29-SIT2; [8] S2C28-SIT1; [9] S2C29-SIT1.

### 5.3.1 Validação Estatística e Significância

Para confirmar se as disparidades observadas entre os desempenhos dos grupos de Maior Correlação Positiva e Maior Anticorrelação são estatisticamente robustas, realizou-se uma análise comparativa sistemática utilizando o teste t de Student com correção de Welch. Esta análise unificada abrangeu todos os nove experimentos e as diferentes classes comportamentais. A escolha deste teste justifica-se pela necessidade de uma abordagem robusta a amostras com tamanhos desiguais e variâncias distintas, uma vez que a duração e a frequência de cada comportamento variam conforme a livre exploração do animal, o que impede a premissa de homocedasticidade.

Os resultados estatísticos corroboram a superioridade preditiva do grupo de anticorrelação em aproximadamente 80% das comparações realizadas. Em diversos cenários, especialmente na Tarefa 3-CH (Experimentos 1 e 2), a significância atingiu níveis extremos, com valores de  $p < 10^{-30}$ , indicando uma separabilidade inequívoca entre os conteúdos informacionais dos dois grupos.

Mesmo nos casos onde a acurácia absoluta foi similar entre os grupos (como no Experimento 4), o teste de hipóteses permitiu validar que, durante as interações sociais, os neurônios do grupo de anticorrelação fornecem padrões de disparos mais distintos e confiáveis, facilitando a identificação precisa de cada comportamento pelo algoritmo. Sob o ponto de vista estatístico, a rejeição da hipótese nula na vasta maioria das sessões confirma que a métrica de Força Nodal Líquida é um preditor eficaz da especialização funcional, consolidando a ideia de que a segregação e o contraste são pilares fundamentais da codificação socio-comportamental no mPFC.

## 6 CONCLUSÃO

Esta dissertação cumpriu o objetivo de investigar a dinâmica funcional do Córtex Pré-Frontal Medial durante o comportamento social, estabelecendo um protocolo analítico capaz de decodificar estados comportamentais a partir de registros de imageamento de cálcio. Através da aplicação de métodos de aprendizado supervisionado, foi possível validar que a atividade neuronal desta região contém informações estruturadas e robustas para a classificação de contextos sociais e não-sociais.

No que diz respeito à dinâmica temporal, o desenvolvimento desta pesquisa permitiu identificar uma propriedade emergente crucial do sistema: a convergência de escalas. A análise demonstrou que a estrutura de interdependência da rede neuronal apresenta uma escala temporal isomórfica à das decisões do animal, provendo o suporte dinâmico necessário para a estruturação do comportamento. Este ponto de inflexão identificado na magnitude da correlação global caracteriza o tempo de estabilização das representações funcionais e serve como um marco fundamental para análises futuras que busquem correlacionar a velocidade de processamento neural com a complexidade da tomada de decisão.

Quanto ao mapeamento da topologia funcional, a implementação da métrica de Força Nodal Líquida ( $S_j^{net}$ ) foi eficaz na identificação de subconjuntos neuronais com papéis distintos na rede. Ao segregar os neurônios em grupos de sincronização (positiva) e segregação (anticorrelação), observou-se que a rede se reconfigura dinamicamente conforme o contexto, gerando assinaturas vetoriais que permitiram ao classificador operar com precisão superior a 95% em diversos cenários.

Um dos pontos centrais respondidos por este estudo foi a comparação do poder preditivo entre esses grupos funcionais. Contrariando a intuição de que a sincronização massiva seria o principal vetor de informação, os testes estatísticos demonstraram que os neurônios com forte anticorrelação são, na maioria dos experimentos, superiores na tarefa de decodificação. Sob a ótica da Teoria da Informação, conclui-se que enquanto a sincronia provê a coesão do estado global, as anticorrelações fornecem o contraste e a degenerescência necessários para a discriminação precisa de comportamentos complexos.

Como perspectiva para trabalhos futuros, ressalta-se a necessidade de validar a capacidade de generalização deste modelo para a predição entre diferentes sujeitos (*cross-animal*). Tal investigação será fundamental para determinar se os padrões de correlação aqui identificados possuem uma assinatura universal ou se variam conforme a individualidade biológica de cada animal. Adicionalmente, o aprofundamento da

técnica pode envolver a integração de manipulações farmacológicas ou optogenéticas para testar a causalidade dos neurônios identificados como *hubs* funcionais na rede pré-frontal.

Diante do exposto, os resultados validam o protocolo analítico proposto como uma abordagem robusta para a caracterização quantitativa da dinâmica de populações neurais. A eficácia do algoritmo *Random Forest* na decodificação de estados a partir de apenas 10 neurônios confirma que a informação social está distribuída de forma eficiente e esparsa no mPFC. Sob a ótica da neurociência, este achado revela que a anticorrelação é o caminho fundamental para o estabelecimento de uma assinatura comportamental, pois o silenciamento coordenado de subgrupos específicos provê o contraste informacional necessário para delimitar as fronteiras entre estados complexos.

Nesse sentido, a importância desse mecanismo reside na degenerescência do sistema, onde grupos estruturalmente diferentes de neurônios podem realizar a mesma função ou codificar o mesmo resultado funcional, garantindo que a rede não dependa de uma única via redundante, mas de múltiplas combinações dinâmicas que conferem resiliência e precisão à representação do comportamento social. Dessa forma, este estudo estabelece uma base sólida para o uso de ferramentas da física computacional na compreensão de como a organização funcional do cérebro emerge de interações coletivas.

## REFERÊNCIAS

AHARONI, D.; HOOGLAND, T. M. Circuit investigations with open-source miniaturized microscopes: past, present and future. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, Volume 13 - 2019, 2019. ISSN 1662-5102. DOI: 10.3389/fncel.2019.00141. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-neuroscience/articles/10.3389/fncel.2019.00141>. Citado 5 vezes nas páginas 21, 33, 47, 49, 51.

ALBERTS, B. **Biologia molecular da célula**. [S.l.]: Artmed, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 28–30.

ARENAS, A.; DIAZ-GUILERA, A.; KURTHS, J.; MORENO, Y.; ZHOU, C. Synchronization in complex networks. **Physics Reports**, v. 469, mai. 2008. DOI: 10.1016/j.physrep.2008.09.002. Citado 1 vez na página 36.

AVALE, E.; CHABOUT, J.; PONS, S.; SERREAU, P.; CHAUMONT, F.; OLIVO-MARIN, J.-C.; BOURGEOIS, J.-P.; MASKOS, U.; CHANGEUX, J.-P.; GRANON, S. Prefrontal nicotinic receptors control novel social interaction between mice. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 25, p. 214–555, mar. 2011. DOI: 10.1096/fj.10-178558. Citado 7 vezes nas páginas 31, 37, 40, 43, 46, 52.

BALASIS, G.; BALIKHIN, M. A.; CHAPMAN, S. C.; CONSOLINI, G.; DAGLIS, I. A.; DONNER, R. V.; KURTHS, J.; PALUŠ, M.; RUNGE, J.; TSURUTANI, B. T.; VASSILIADIS, D.; WING, S.; GJERLOEV, J. W.; JOHNSON, J.; MATERASSI, M.; ALBERTI, T.; PAPADIMITRIOU, C.; MANS HOUR, P.; BOUTSI, A. Z.; STUMPO, M. Complex systems methods characterizing nonlinear processes in the Near-Earth electromagnetic environment: recent advances and open challenges. **Space Science Reviews**, v. 219, n. 5, p. 38, 2023. ISSN 1572-9672. DOI: 10.1007/s11214-023-00979-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11214-023-00979-7>. Citado 1 vez na página 26.

BEAR, M. **Neurociências : desvendando o sistema nervoso**. [S.l.]: Artmed, 2017. Citado 8 vezes nas páginas 27, 28, 31–33, 37, 43–45, 47.

BERTON, O.; RAMOS, A.; CHAOULOFF, F.; MORMDE, P. Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains. **Behavior genetics**, v. 27, abr. 1997. DOI: 10.1023/A:1025641509809. Citado 3 vezes nas páginas 42, 46, 52.

BICKS, L. K.; KOIKE, H.; AKBARIAN, S.; MORISHITA, H. Prefrontal cortex and social cognition in mouse and man. **Frontiers in psychology**, Frontiers Media SA, v. 6, p. 1805, 2015. Citado 1 vez na página 20.

BOERS, N.; KURTHS, J.; MARWAN, N. Complex systems approaches for Earth system data analysis. **Journal of Physics: Complexity**, v. 2, abr. 2021. DOI: 10.1088/2632-072X/abd8db. Citado 1 vez na página 26.

CAI, D. J.; AHARONI, D.; SHUMAN, T.; SHOBE, J.; BIANE, J.; SONG, W.; WEI, B.; VESHKINI, M.; LA-VU, M.; LOU, J.; FLORES, S. E.; KIM, I.; SANO, Y.; ZHOU, M.; BAUMGAERTEL, K.; LAVI, A.; KAMATA, M.; TUSZYNSKI, M.; MAYFORD, M.; GOLSHANI, P.; SILVA, A. J. A shared neural ensemble links distinct contextual memories encoded close in time. **Nature**, v. 534, n. 7605, p. 115–118, jun. 2016. ISSN 1476-4687. DOI: 10.1038/nature17955. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature17955>. Citado 1 vez na página 49.

CASTRO, D. M.; FELICIANO, T.; VASCONCELOS, N. A. P. de; SOARES-CUNHA, C.; COIMBRA, B.; RODRIGUES, A. J.; CARELLI, P. V.; COPELLI, M. In and out of criticality? State-Dependent scaling in the rat visual cortex. **PRX Life**, American Physical Society, v. 2, 2 mai. 2024. DOI: 10.1103/PRXLife.2.023008. Disponível em: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PRXLife.2.023008>. Citado 1 vez na página 40.

CHABOUT, J.; SERREAU, P.; GRANON, S. Neural bases of flexible behaviours during social interaction: role of the prefrontal cortex and neuronal nicotinic receptors in mice models. **European Psychiatry**, Elsevier, v. 28, p. 1, 2013. Citado 1 vez na página 20.

COLAS-ZELIN, D.; LIGHT, K. R.; KOLATA, S.; WASS, C.; DENMAN-BRICE, A.; RIOS, C.; SZALK, K.; MATZEL, L. D. The imposition of, but not the propensity for, social subordination impairs exploratory behaviors and general cognitive abilities. **Behavioural Brain Research**, v. 232, n. 1, p. 294–305, 2012. ISSN 0166-4328. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.04.017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016643281200277X>. Citado 1 vez na página 42.

COURA, R. S.; CRESSANT, A.; XIA, J.; CHAUMONT, F. de; OLIVO-MARIN, J. C.; PELLOUX, Y.; DALLEY, J. W.; GRANON, S. Nonaggressive and adapted social cognition is controlled by the interplay between noradrenergic and nicotinic receptor mechanisms in the prefrontal cortex. **The FASEB Journal**, v. 27, n. 11, p. 4343–4354, 2013. DOI: 10.1096/fj.13-231084. eprint:

<https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1096/fj.13-231084>.

Disponível em: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.13-231084>.

Citado 2 vezes nas páginas 42, 46.

FAURE, A.; PITTARAS, E.; NOSJEAN, A.; CHABOUT, J.; CRESSANT, A.; GRANON, S. Social behaviors and acoustic vocalizations in different strains of mice.

**Behavioural Brain Research**, v. 320, p. 383–390, 2017. ISSN 0166-4328. DOI:

10.1016/j.bbr.2016.11.003. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432816309974>. Citado 8 vezes nas páginas 31, 33, 37, 38, 47, 48, 52.

FONTENELE, A. J.; VASCONCELOS, N. A. P. de; FELICIANO, T.; AGUIAR, L. A. A.; SOARES-CUNHA, C.; COIMBRA, B.; DALLA PORTA, L.; RIBEIRO, S.;

RODRIGUES, A. J.; SOUSA, N.; CARELLI, P. V.; COPELLI, M. Criticality between Cortical States. **Physical Review Letters**, American Physical Society, v. 122, 20 mai. 2019. DOI: 10.1103/PhysRevLett.122.208101. Disponível em:

<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.122.208101>. Disponível em:

<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.122.208101>. Citado 1 vez na página 40.

FROST, N. A.; HAGGART, A.; SOHAL, V. S. Dynamic patterns of correlated activity in the prefrontal cortex encode information about social behavior. **PLOS Biology**, Public Library of Science, v. 19, p. 1–35, mai. 2021. DOI: 10.1371/journal.pbio.3001235.

Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001235>. Citado 2 vezes nas páginas 41, 48.

**G1. Cientistas criam imagem que mostra circuito de neurônios.** Foto: Instituto Allen. 2025. Disponível em: <https://g1.globo.com/ciencia/noticia/2025/04/10/cientistas-criam-imagem-que-mostra-circuito-de-neuronios.ghtml>. Acesso em: 14 out. 2025. Citado 1 vez na página 26.

GASS, J. T.; CHANDLER, L. J. The plasticity of extinction: contribution of the prefrontal cortex in treating addiction through inhibitory learning. **Frontiers in Psychiatry**, v. 4, 2013. ISSN 1664-0640. DOI: 10.3389/fpsyt.2013.00046. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/psychiatry/articles/10.3389/fpsyt.2013.00046>. Citado 1 vez na página 31.

GÉRON, A. **Mãos à Obra: Aprendizado de Máquina com Scikit-Learn & TensorFlow**. [S.l.]: Alta Books, 2019. ISBN 9788550809021. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=Z0mvDwAAQBAJ>. Citado 2 vezes nas páginas 58, 60.

GUPTA, S.; MASTRANTONAS, N.; MASOLLER, C.; KURTHS, J. Perspectives on the importance of complex systems in understanding our climate and climate change—The Nobel Prize in Physics 2021. **Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science**, v. 32, n. 5, p. 052–102, mai. 2022. ISSN 1054-1500. DOI: 10.1063/5.0090222. eprint: [https://pubs.aip.org/aip/cha/article-pdf/doi/10.1063/5.0090222/19805544/052102\\_1\\_online.pdf](https://pubs.aip.org/aip/cha/article-pdf/doi/10.1063/5.0090222/19805544/052102_1_online.pdf). Disponível em: <https://doi.org/10.1063/5.0090222>. Citado 1 vez na página 26.

IZHIKEVICH, E. **Dynamical Systems in Neuroscience: The Geometry of Excitability and Bursting**. [S.l.: s.n.], jan. 2007. v. 25. ISBN 9780262276078. DOI: 10.7551/mitpress/2526.001.0001. Citado 1 vez na página 35.

JAMES, G.; WITTEN, D.; HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; TAYLOR, J. **An introduction to statistical learning: with applications in Python**. [S.l.: s.n.], jan. 2023. ISBN 978-3-031-38746-3. DOI: 10.1007/978-3-031-38747-0. Citado 1 vez na página 60.

KABITZKE, P. A.; SIMPSON, E. H.; KANDEL, E. R.; BALSAM, P. D. Social behavior in a genetic model of dopamine dysfunction at different neurodevelopmental time points. **Genes, Brain and Behavior**, v. 14, n. 7, p. 503–515, 2015. DOI: 10.1111/gbb.12233. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gbb.12233>. Citado 1 vez na página 20.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; SIEGELBAUM, S. A.; HUDSPETH, A. J. **Princípios de Neurociências**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2014. ISBN 9788580554052. Citado 3 vezes nas páginas 28, 30, 37.

KINGSBURY, L.; HUANG, S.; WANG, J.; GU, K.; GOLSHANI, P.; WU, Y. E.; HONG, W. Correlated neural activity and encoding of behavior across brains of socially interacting animals. **Cell**, v. 178, n. 2, p. 429–446, 2019. ISSN 0092-8674. DOI:

10.1016/j.cell.2019.05.022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867419305501>. Citado 6 vezes nas páginas 34, 40, 41, 48, 50, 53.

KINOUCI, O.; COPELLI, M. Optimal dynamical range of excitable networks at criticality. **Nature Physics**, v. 2, fev. 2006. DOI: 10.1038/nphys289. Citado 1 vez na página 40.

KO, J. Neuroanatomical substrates of rodent social behavior: the medial prefrontal cortex and its projection patterns. **Frontiers in neural circuits**, Frontiers Media SA, v. 11, p. 41, 2017. Citado 1 vez na página 20.

KWAPIEŃ, J.; DROZDZ, S. Physical approach to complex systems. **Physics Reports**, v. v. 515, pages 115–226, 2012. DOI: 10.1016/j.physrep.2012.01.007. Citado 3 vez na página 26.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 27 nov. 2025. Citado 3 vezes nas páginas 31, 33, 37.

LHOPITALIER, C.; PERRAULT, C.; CHAUVEAU, F.; SAURINI, F.; BERRARD, S.; GRANON, S.; FAURE, A. Characterization of social behavior in young and middle-aged ChAT-IRES-Cre mouse. **PLOS ONE**, Public Library of Science, v. 17, n. 8, p. 1–27, ago. 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0272141. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272141>. Citado 6 vezes nas páginas 33, 43, 44, 46, 52, 53, 62.

LIANG, B.; ZHANG, L.; BARBERA, G.; FANG, W.; ZHANG, J.; CHEN, X.; CHEN, R.; LI, Y.; LIN, D.-T. Distinct and dynamic ON and OFF neural ensembles in the prefrontal cortex code social exploration. **Neuron**, v. 100, n. 3, p. 700–714, 2018. ISSN 0896-6273. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.08.043. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627318307724>. Citado 9 vezes nas páginas 34, 38, 41, 46, 47, 50, 52.

LU, J.; LI, C.; SINGH-ALVARADO, J.; ZHOU, Z. C.; FRÖHLICH, F.; MOONEY, R.; WANG, F. MIN1PIPE: A Miniscope 1-Photon-Based calcium imaging signal extraction pipeline. **Cell Reports**, v. 23, n. 12, p. 3673–3684, 2018. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.05.062. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221112471830826X>. Citado 2 vezes nas páginas 50, 51, 66.

MOHAPATRA, A. N.; WAGNER, S. The role of the prefrontal cortex in social interactions of animal models and the implications for autism spectrum disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:259195940>. Citado 2 vezes nas páginas 20, 37.

MURUGAN, M.; JANG, H. J.; PARK, M.; MILLER, E. M.; COX, J.; TALIAFERRO, J. P.; PARKER, N. F.; BHAVE, V.; HUR, H.; LIANG, Y. *et al.* Combined social and spatial coding in a descending projection from the prefrontal cortex. **Cell**, Elsevier, v. 171, n. 7, p. 1663–1677, 2017. Citado 1 vez na página 20.

PEDREGOSA, F.; VAROQUAUX, G.; GRAMFORT, A.; MICHEL, V.; THIRION, B.; GRISEL, O.; BLONDEL, M.; PRETTENHOFER, P.; WEISS, R.; DUBOURG, V.; VANDERPLAS, J.; PASSOS, A.; COURNAPEAU, D.; BRUCHER, M.; PERROT, M.; DUCHESNAY, E. Scikit-learn: Machine Learning in Python. **Journal of Machine Learning Research**, v. 12, p. 2825–2830, 2011. Citado 3 vezes nas páginas 21, 60, 69.

PIKOVSKY, A.; ROSENBLUM, M.; KURTHS, J. Synchronization: A Universal Concept In Nonlinear Sciences. **American Journal of Physics**, v. 70, jun. 2002. DOI: 10.1119/1.1475332. Citado 1 vez na página 35.

SCHNEIDMAN, E.; BERRY II, M.; SEGEV, R.; BIALEK, W. Weak pairwise correlations imply strongly correlated network states in a neural population. **Nature**, v. 440, p. 100–112, mai. 2006. DOI: 10.1038/nature04701. Citado 4 vezes nas páginas 39, 41, 54.

SOBREIRA, V. Um panorama da História da Inteligência Artificial e suas aplicações na pesquisa histórica. **Varia Historia**, v. 41, jun. 2025. DOI: 10.1590/0104-87752025v41e25035. Citado 1 vez na página 55.

STROGATZ, S. **Nonlinear Dynamics and Chaos: With Applications to Physics, Biology, Chemistry, and Engineering**. [S.l.]: CRC Press, 2018. ISBN 9780429961113. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=A0paDwAAQBAJ>. Citado 1 vez na página 35.

TURING, A. M. Computing machinery and intelligence. **Mind**, v. LIX, n. 236, p. 433–460, out. 1950. ISSN 0026-4423. DOI: 10.1093/mind/LIX.236.433. eprint: [https://academic.oup.com/mind/article-pdf/LIX/236/433/61209000/mind\\_lix\\_236\\_433.pdf](https://academic.oup.com/mind/article-pdf/LIX/236/433/61209000/mind_lix_236_433.pdf). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mind/LIX.236.433>. Citado 1 vez na página 54.

YANG, J.; PRESCOTT, S. A. Homeostatic regulation of neuronal function: importance of degeneracy and pleiotropy. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, Volume 17 - 2023, 2023. ISSN 1662-5102. DOI: 10.3389/fncel.2023.1184563. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-neuroscience/articles/10.3389/fncel.2023.1184563>. Citado 1 vez na página 39.

YASHIMA, J.; UEKITA, T.; SAKAMOTO, T. The prelimbic cortex but not the anterior cingulate cortex plays an important role in social recognition and social investigation in mice. **PLOS ONE**, v. 18, abr. 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0284666. Citado 1 vez na página 38.

## APÊNDICE A – ANÁLISES COMPLEMENTARES

Neste apêndice, são apresentados os resultados gráficos referentes aos sete experimentos adicionais (1, 3, 4, 5, 7, 8 e 9). Estes dados foram submetidos ao mesmo pipeline de reprocessamento e interpretação utilizado nas análises principais deste trabalho.

**Experimentos:** [1] S2C29-3CH3; [3] S2C29-3CH1; [4] S2C29-3CH2; [5] S2C29-SIT3; [7] S1C29-SIT2; [8] S2C28-SIT1; [9] S2C29-SIT1.

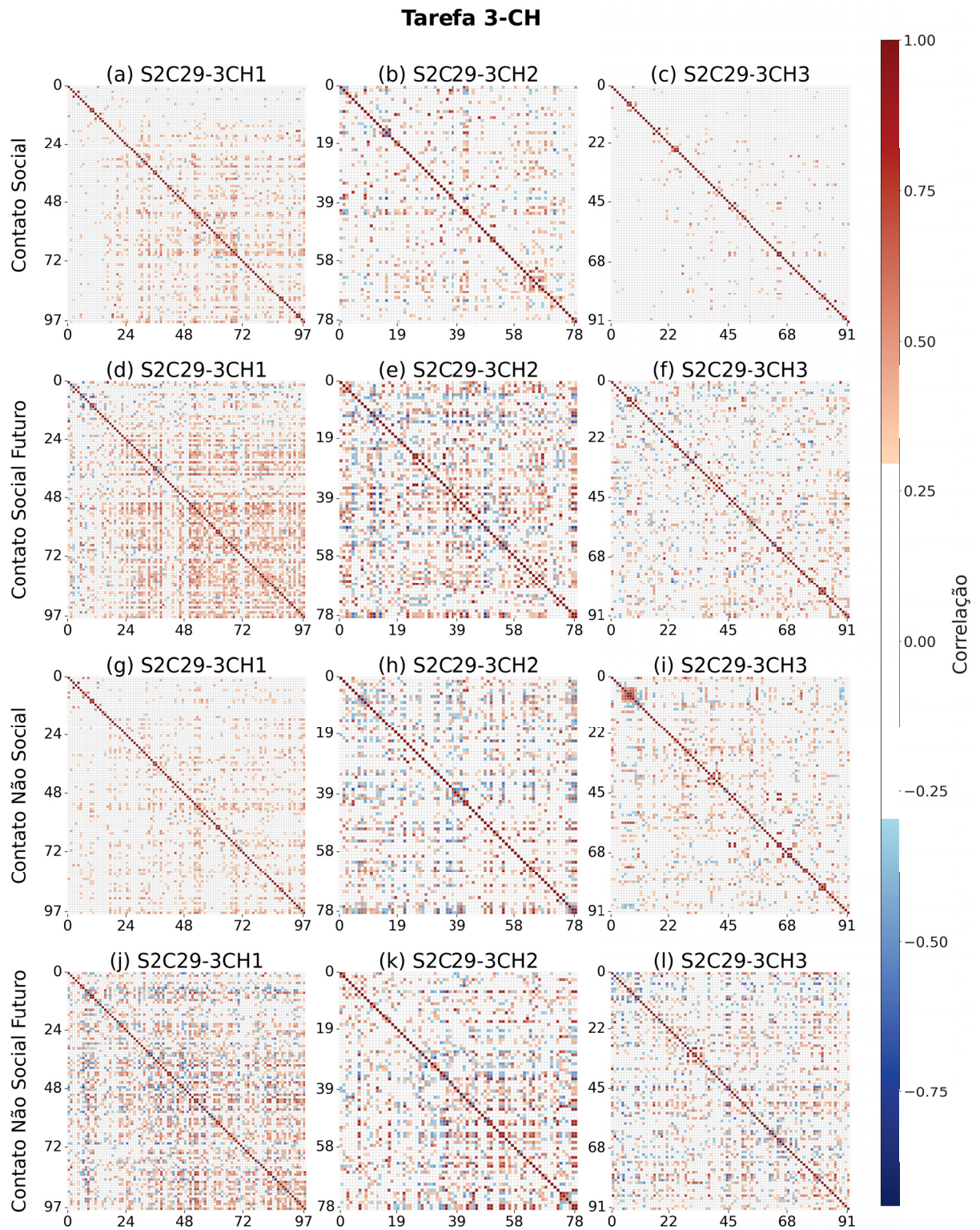


FIGURA 22 – Matrizes de correlação para cada comportamento na tarefa 3-CH calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor.

### Tarefa SIT

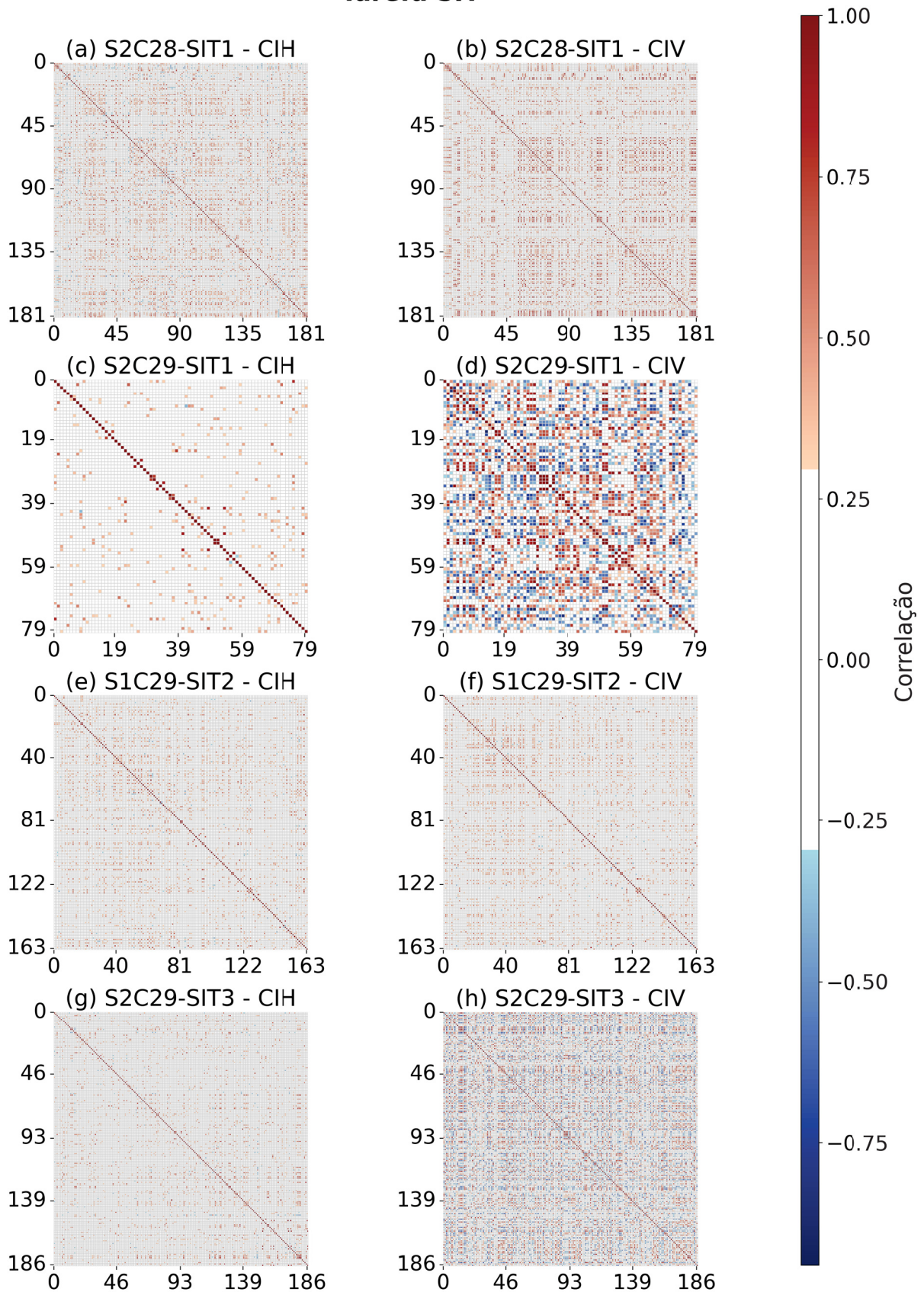


FIGURA 23 – Matrizes de correlação para cada comportamento na tarefa SIT calculadas usando a correlação média entre neurônios em formato de mapa de calor.

## Tarefa 3-CH

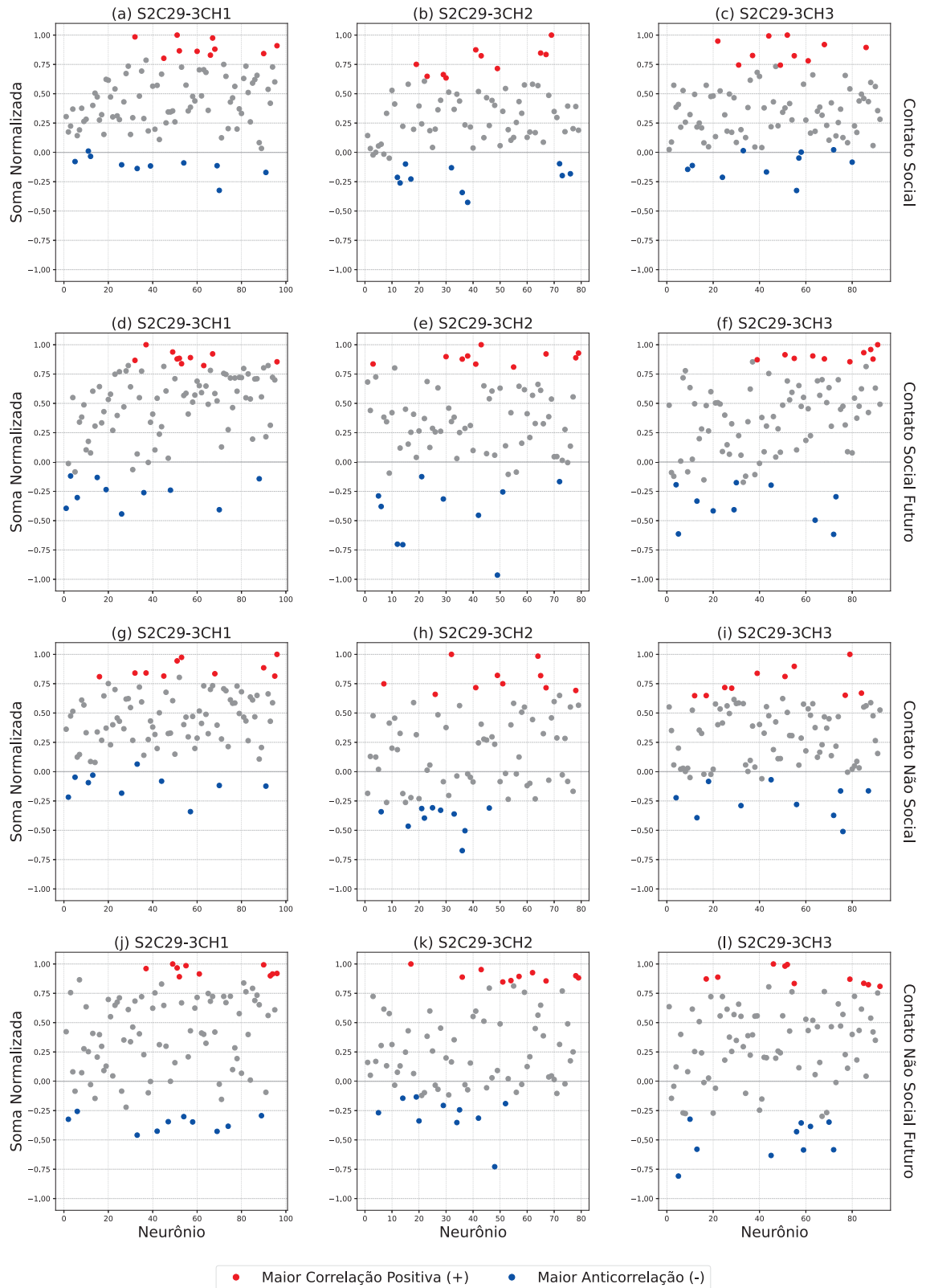


FIGURA 24 – Análise de correlação acumulada por neurônio na tarefa 3-CH.

## Tarefa SIT

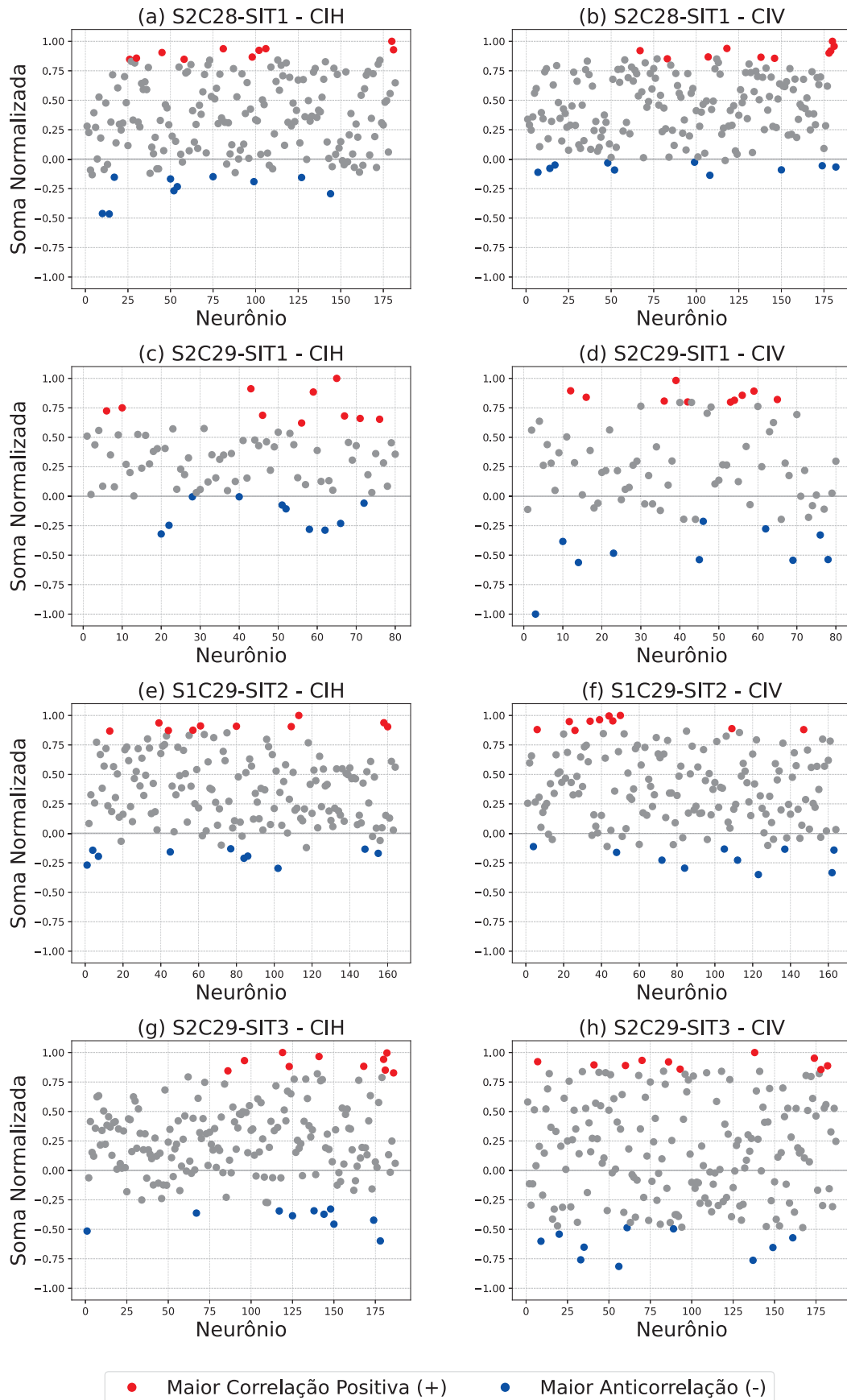


FIGURA 25 – Análise de correlação acumulada por neurônio na tarefa SIT.

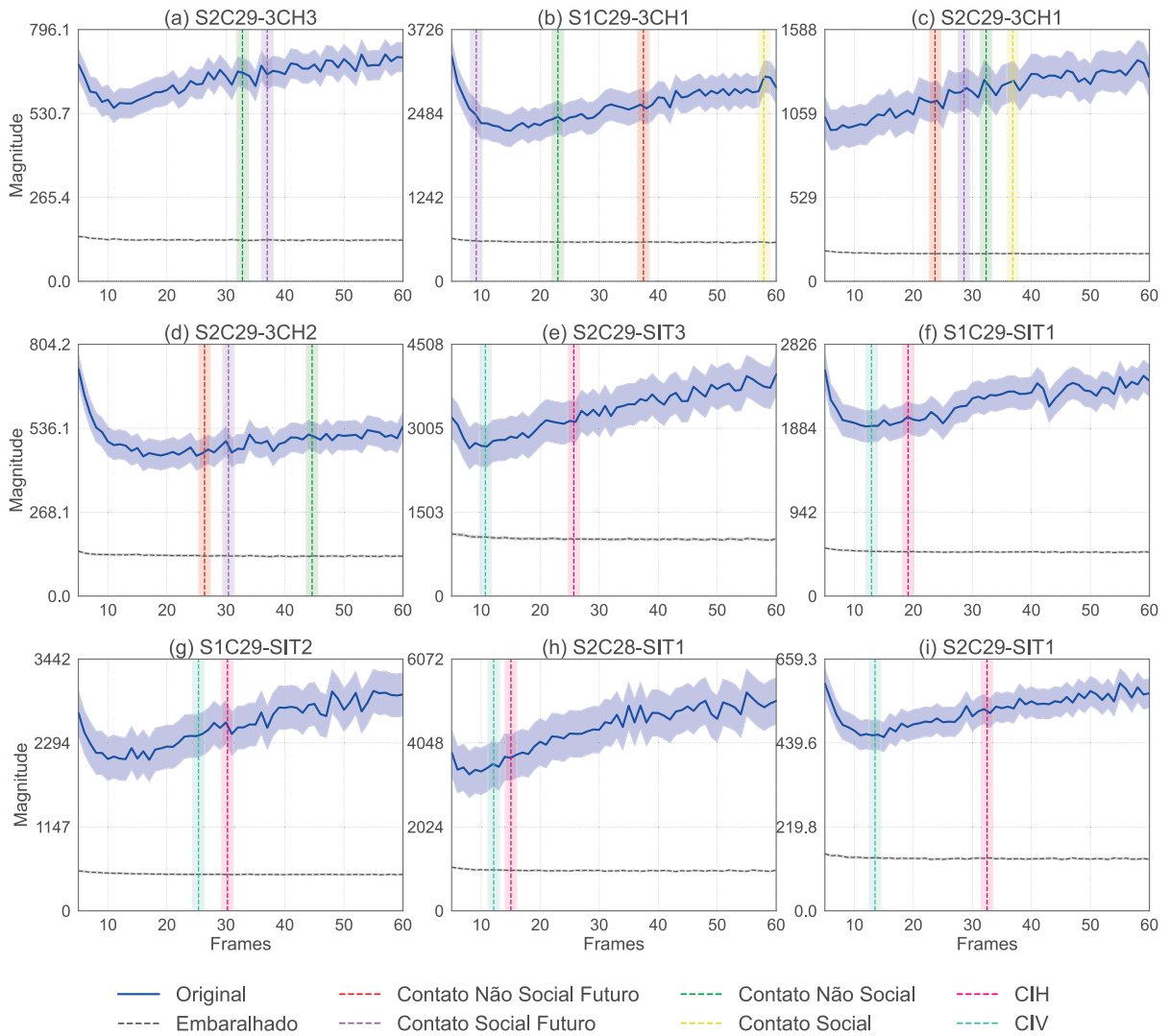


FIGURA 26 – Comparação da magnitude da correlação ao longo do tempo (janelas de frames) para dados originais e embaralhados.

**Tarefa 3-CH**

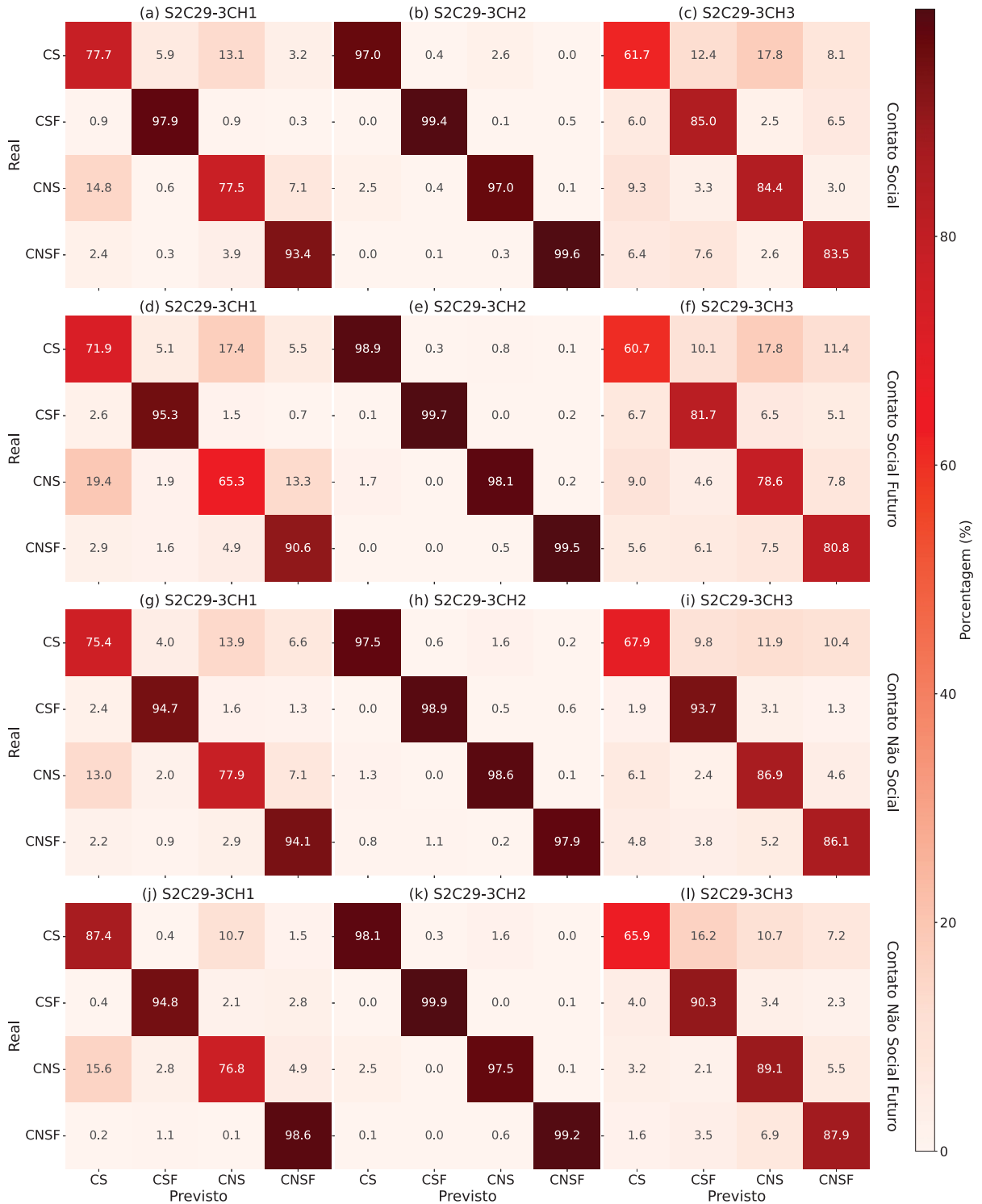


FIGURA 27 – Matrizes de confusão para a tarefa 3-CH utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Correlação Positiva.

**Tarefa 3-CH**

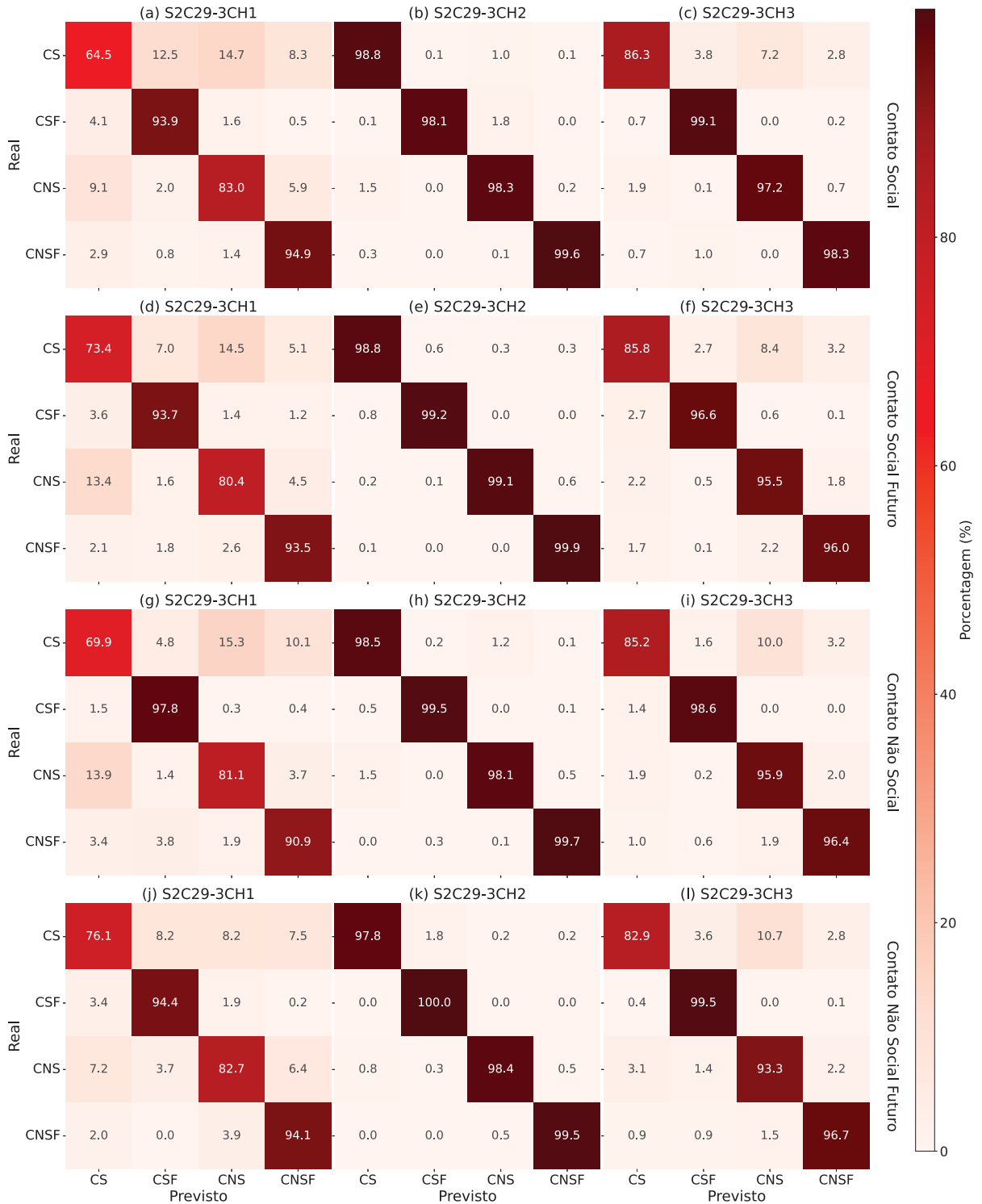


FIGURA 28 – Matrizes de confusão para a tarefa 3-CH utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Anticorrelação.

**Tarefa SIT**

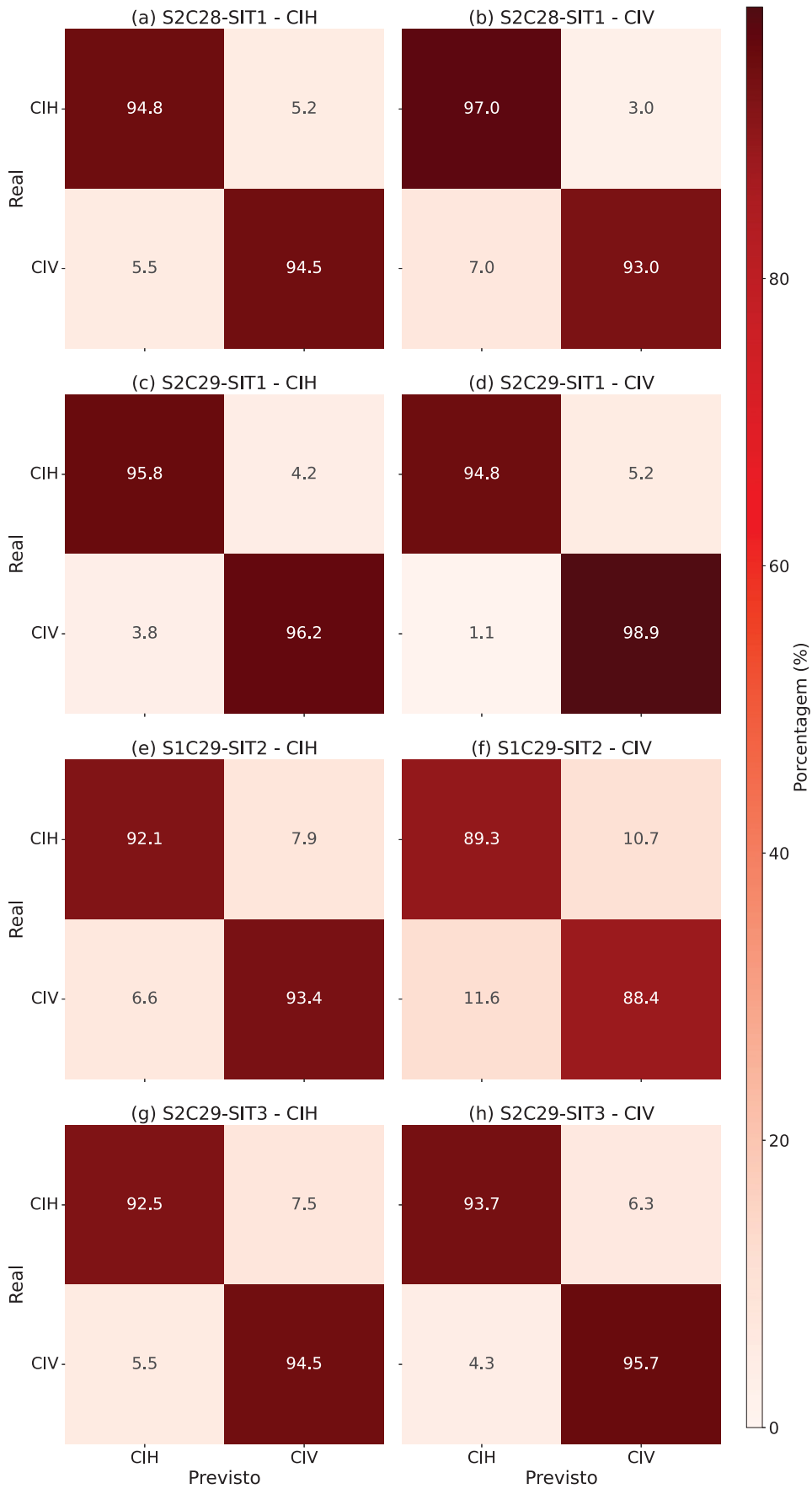


FIGURA 29 – Matrizes de confusão para a tarefa SIT utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Correlação Positiva.

**Tarefa SIT**

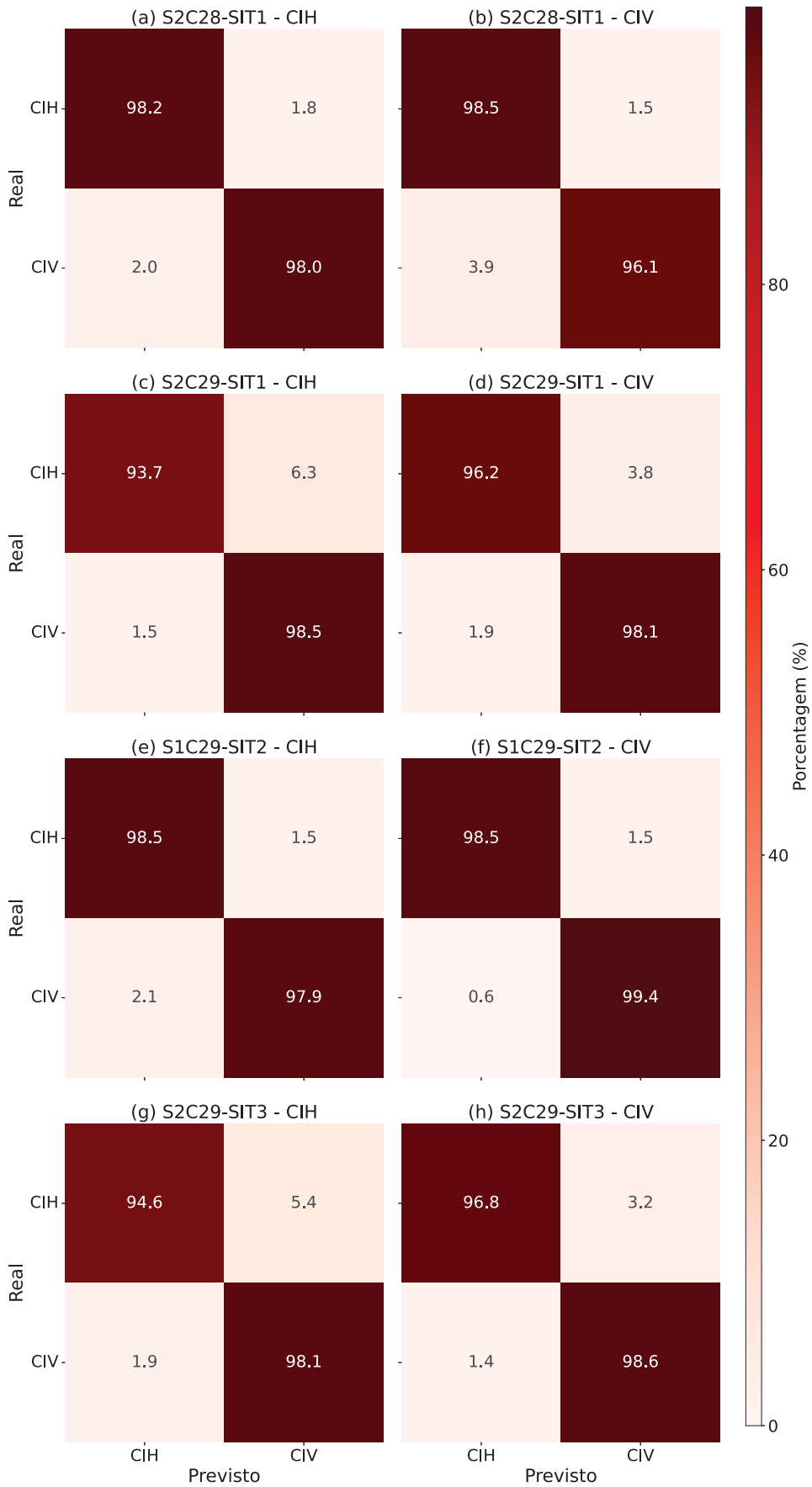


FIGURA 30 – Matrizes de confusão para a tarefa SIT utilizando apenas os neurônios do grupo de Maior Anticorrelação.