



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

HEITOR FRANCO SANTOS

**INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE
MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO
UNITÁRIO DE NEURÔNIOS**

SÃO CRISTÓVÃO

2023

HEITOR FRANCO SANTOS INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE MEMÓRIA
AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E
REGISTRO UNITÁRIO DE NEURÔNIOS 2023

HEITOR FRANCO SANTOS

**INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE
MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO
UNITÁRIO DE NEURÔNIOS**

Documento de defesa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

SÃO CRISTÓVÃO

2023

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237i Santos, Heitor Franco
Integração cortical durante os processos de memória aversiva no lagarto *Tropidurus hispidus* : uma avaliação do potencial de campo local e registro unitário de neurônios / Heitor Franco Santos ; orientador José Ronaldo dos Santos. – São Cristóvão, SE, 2023. 150 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2023.

1. Eletrofisiologia. 2. Répteis. 3. Hipocampo. 4. Aprendizagem.
I. Santos, José Ronaldo dos, orient. II. Título.

CDU 591.181

HEITOR FRANCO SANTOS

**INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE
MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO
UNITÁRIO DE NEURÔNIOS**

Documento de defesa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

Presidente: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

1º Examinador: Prof. Dr. André Souza Mecawi

2º Examinador: Flávio Freitas Barbosa

3º Examinador: Prof. Dr.^a Vanessa Pereira Tortelli

4º Examinador: Prof. Dr. Julian Herrera Tejada

SÃO CRISTÓVÃO
2023

Dedico a construção do documento e do meu desenvolvimento a Deus e ao direcionamento conduzido pelo meu orientador Dr. José Ronaldo dos Santos. Dedico à minha esposa. Dedico à minha família. Dedico ao LaNCE e aos amigos, agradeço, os momentos que compartilhamos que foram primordiais.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir concluir o doutorado, mais uma etapa, e vivenciar tantas experiências, as quais levarei com muita satisfação. A conclusão dessa etapa foi essencial e, sem dúvidas, surpreendente. Foram muitas as experiências, desde projetos participados até dificuldades superadas e enfrentadas. Dentre essas, destaco que o doutorado em si é uma etapa difícil, com muitos desafios e diversas demandas que nos deixam com poucas opções: ou superamos ou recuamos. Mas posso dizer que superar não significa estar sozinho, quebrar a cabeça sozinho ou sofrer sozinho. É possível e necessário buscar ajuda, tirar dúvidas reais, desabafar, chorar, encontrar rotas de fuga (mentais e físicas) e contar com pessoas em quem podemos confiar. Não vou negar que às vezes dá vontade de desistir e seguir outro caminho, pois nem todos estão preparados para seguir uma vocação que exige independência, que faz entender que ser orientado não significa que as coisas serão feitas por você, e que é preciso ter resiliência e ser intencional no próprio crescimento, pois ele não acontece por acaso.

Nessa jornada que é o doutorado, posso dizer que minhas experiências no laboratório me fortaleceram e me permitiram ser flexível como um neurônio, ramificando em uma direção e recuando em outras. Durante o doutorado, continuei estudando, inovando, aprendendo e, acima de tudo, cometendo erros repetidamente em busca do acerto. Assim, dedico meus agradecimentos ao meu orientador Ronaldo, pois ele foi uma fonte de apoio e estímulo para que eu pudesse continuar estudando, desenvolvendo-me e me preparando. Ele também abraçou a causa de finalizar uma tese em dois meses e viajar para São Paulo de carro com um monte de calango para me ajudar na etapa final, e que etapa! Aprendi muito sobre arquitetura pós-contemporânea (rsrs), obrigado Ronaldo e Leandro. Além de ser meu orientador, Ronaldo foi um grande amigo e parceiro para risadas e experiências, para conversas e apoio. A união do orientador e amigo resultou na formação de um grupo que superou expectativas e hoje somos mais do que colegas, somos uma família, o LaNCE.

O laboratório é a nossa lojinha e lá é o lugar onde nossos sonhos se desenvolvem. O LaNCE acolheu uma família científica extensa, e muitas pessoas fizeram e fazem parte desse grupo. Eu vivenciei duas vidas do LanCE: a primeira vinculada ao LNFS e a segunda como o LaNCE que saiu de casa e estabeleceu própria residência (o que trouxe muito orgulho para o BIG BIG BOSS - Murilo Marchioro, que viu Prof. Ronaldo virar referência na UFS e fora dela). Do LNFS/LaNCE, agradeço pelas boas memórias compartilhadas com figuras incríveis como João, Katty, Auderlan, Marcos, Edson R., Edson L., Thassya, Marina, Prof.^a Livia, Prof.^a

Pollyana, Adriano, Thiago, Prof.^a Vanessa, Rodolfo. Do LaNCE, agradeço aos professores (sim, eles venceram) Prof. Auderlan, Prof.^a Katty, ao BIG BOSS Prof. Ronaldo, aos pós-graduandos Camila, Micaelle, Milena, Roberta, Marcelo e, especialmente, àqueles que me ajudaram diretamente nos experimentos: Leandro, Ana, Mylaine e João. Agradeço também aos bolsistas de iniciação científica Carlos, Cássia, Tamires e, em especial, a Abraão, que me ajudou imensamente e sempre se prontificou a ajudar em todos os momentos. Obrigado, colegas de trabalho e amigos. O LaNCE precisa continuar!

E para que tudo possa fazer sentido, eu lhe digo que o apoio familiar é essencial. Agradeço à minha esposa Beatriz, que suportou todas as minhas pressões e me acolheu quando eu não aguentava mais. Obrigado pelo amor, eu te amo. Como família, eu e Beatriz unimos as nossas vidas e todo o amor e apoio que compartilhamos ao longo dos anos nos fez avançar e enfrentar muitos desafios. E você foi estímulo e incentivo porque eu te vi conquistar espaço e reconhecimento na sua área e eu quero continuar ao seu lado enquanto você se torna referência.

Falando sobre a família, primeiramente agradeço à minha mãe, que me apoiou e me incentivou a seguir em frente sem me diminuir ou discriminar. Obrigado, mãe, por me dar a vida e me permitir conquistar coisas. Agradeço também às minhas irmãs Kati e Lu, com quem formamos esse trio meio estranho, doido e animado, mas é graças a você, mãe, que somos assim. Quero agradecer ainda aos meus padrinhos Marcelo e Kelly, por sempre me apoiarem. Foram muitos os momentos em que vocês aliviaram a pressão e me permitiram continuar lutando. Obrigado, amo vocês.

Não posso esquecer de agradecer aos professores do programa pelas importantes lições. Obrigado aos professores que compartilharam seu conhecimento. E aos colegas feitos na pós-graduação, obrigado pela companhia, eu desejo sucesso a vocês. Um agradecimento especial a um amigo do programa o Diego, que me ajudou nesse fim, foi muito solícito em todo o processo de desenvolvimento da caracterização do registro do neurônio e por feito a ponte para acesso ao laboratório do Prof. Danilo na Escola Paulista de Medicina, a quem devo minha gratidão por ter disponibilizado o espaço e de toda sua equipe que me recebeu muito bem. Obrigado.

Eu me despeço aqui. Eu sou muito grato por tudo que vivenciei na pós-graduação e principalmente no laboratório. Foram viagens de idas e vindas, muitos experimentos, muitas madrugadas, risadas, dificuldades, desabafos e muito a se ouvir. Jamais esquecerei de onde vim e porque cheguei em outros lugares. Obrigado, Ronaldo, por você ter acreditado em mim, me desculpe pelos problemas a mais e pela correria. Mas parece que existem outros planos para mim e você me ajudou muito.

“O crescimento tem que ser intencional, ninguém melhora por acidente.”

John Maxwell

RESUMO

INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO UNITÁRIO DE NEURÔNIOS. Doutorado em Ciências Fisiológicas. Heitor Franco Santos, 2023.

INTRODUÇÃO: Estudos eletrofisiológicos contribuem para o entendimento acerca dos processos de memórias: formação, consolidação e evocação, em diferentes tipos de memória. Compreender como esses processos ocorrem em diferentes grupos de animais pode contribuir para o esclarecimento de aspectos evolutivos, como funciona a comunicação entre regiões do cérebro e sobre mecanismos fisiológicos envolvidos. Nesse contexto, se inserem os estudos de memória em lagartos, cujos córtices possuem homologias já descritas com o hipocampo de mamíferos e investigar a gênese eletrofisiológica pode ter papel chave para uma melhor compreensão do fenômeno, tanto a nível de atividade de campo, quanto a nível de célula. **OBJETIVOS:** avaliar a integração dos córtices dorsomedial e lateral do lagarto *Tropidurus hispidus* durante os processos de memória aversiva e iniciar o processo de caracterização da atividade elétrica de neurônios piramidais do córtex dorsomedial. **MÉTODOS:** Foram utilizados lagartos da espécie *T. hispidus* em dois experimentos. Experimento I (n = 30): avaliação de memória. Os animais foram divididos em grupos: grupos muscimol (MUS) e controle (CTL) para cada um dos processos de aquisição, consolidação e evocação da memória aversiva. No modelo de exposição ao estímulo aversivo, temos treino e teste (ambientação e exposição (gato ou gaiola)). Foram realizadas cirurgias para implantes dos eletrodos (córtex dorsomedial (CDM) e córtex lateral (CL)) e cânulas guias no córtex lateral, respectivamente para registro e modulação farmacológica. A modulação dos processos de memória ocorre através da intervenção farmacológica do muscimol (agonista inibitório) no CL, com avaliação eletrofisiológica por eletrodos. A infusão da droga foi diretamente no CL e respeitado cada processo de memória. Foram avaliados o comportamento (congelamento) e análises no domínio do tempo e da frequência. No experimento II (n = 5): caracterização do registro de neurônios (por fixação de célula inteira) do tipo piramidais do CDM do hipocampo reptiliano. Foram descritas características intrínsecas do neurônio. **RESULTADOS:** Os resultados associam a resposta de congelamento diante da tarefa, o grupo MUS_AQ realiza menor tempo de congelamento comparado aos outros. O grupo MUS_AQ apresentou resultados que não se emparelham com o seu controle ou outros grupos. Na avaliação funcional, o grupo MUS_AQ não dissocia a exposição ao gato, do período de ambientação. No domínio da frequência o MUS_AQ também apresentou prejuízos para a atividade de potência, coerência e acoplamento que são indicativos para formação de memória. Ao analisarmos o contexto geral, foi percebido que o efeito principal da infusão foi no processo aquisição e apresentou dependência da comunicação entre o CL e CDM. Ao caracterizarmos as correntes iônicas do neurônio piramidal do CDM, foi revelada a presença de correntes curtas e longas que provavelmente estão associadas ao potássio e um padrão eletrofisiológico que parece ser preservado entre diferentes répteis, que pode estar relacionado ao padrão de frequências lentas. **CONCLUSÃO:** A perturbação na integração entre a via CL-CDM prejudica a formação da memória, sendo a integração importante para a aquisição de memória aversiva. O registro de neurônios revelou correntes repolarizantes que podem influenciar a comunicação geral dos neurônios. Por fim, o córtex telencefálico do *T. hispidus* apresenta homologia funcional ao hipocampo mamífero e os achados do presente estudo contribuem com o conhecimento da neurobiologia da memória e características da evolução neuronal em diferentes grupos de vertebrados.

Palavras-chave: Eletrofisiologia, Répteis, Hipocampo, Aprendizagem

ABSTRACT

CORTICAL INTEGRATION DURING AVERSIVE MEMORY PROCESSES IN THE LAGLARTO *Tropidurus hispidus*: AN AVALUATION OF LOCAL FIELD POTENTIAL AND NEURON REGISTRATION. PhD in Physiological Sciences. Heitor Franco Santos, 2023.

INTRODUCTION: Electrophysiological studies contribute to understanding memory processes, such as encoding, consolidation, and recall, in different types of memory. Understanding how these processes occur in different groups of animals can contribute to elucidating evolutionary aspects, such as interregional communication in the brain and the physiological mechanisms involved. In this context, studies on memory in lizards are relevant, as their cortices have homologies with the mammalian hippocampus, and investigating their electrophysiological genesis can play a key role in better understanding the phenomenon at both the field activity and cellular levels. **OBJECTIVES:** This study aimed to evaluate the integration of the dorsomedial and lateral cortices in the lizard *Tropidurus hispidus* during aversive memory processes and initiate the characterization of the electrical activity of pyramidal neurons in the dorsomedial cortex. **METHODS:** *T. hispidus* lizards were used in two experiments. Experiment I (n = 30) focused on memory evaluation. The animals were divided into muscimol (MUS) and control (CTL) groups for each of the acquisition, consolidation, and evocation processes of aversive memory. The aversive stimulus exposure model included training and testing phases (habituation and exposure to a cat or a cage). Surgeries were performed to implant electrodes in the dorsomedial cortex (DMC) and lateral cortex (LC) and to insert guide cannulas in the lateral cortex for recording and pharmacological modulation, respectively. Memory processes were modulated through pharmacological intervention using muscimol (an inhibitory agonist) in the LC, with electrophysiological evaluation using electrodes. The drug infusion was directly into the LC, respecting each memory process. Behavior (freezing) and time and frequency domain analyses were performed. In Experiment II (n = 5), neuronal recordings (whole-cell patch-clamp) were conducted to characterize pyramidal neurons in the DMC of the reptilian hippocampus, focusing on intrinsic neuronal properties. **RESULTS:** The results showed that freezing response during the task was reduced in the MUS_AQ group compared to the other groups. The MUS_AQ group exhibited results that did not match its control or other groups. In functional evaluation, the MUS_AQ group did not dissociate exposure to the cat from the habituation period. In the frequency domain, the MUS_AQ group also showed impairments in power activity, coherence, and coupling, which are indicative of memory formation. When considering the overall context, it was observed that the main effect of the infusion was on the acquisition process and depended on communication between the LC and DMC. Characterization of ionic currents in pyramidal neurons of the DMC revealed the presence of short and long currents likely associated with potassium and an electrophysiological pattern that appears to be preserved across different reptiles and may be related to slow frequency patterns. **CONCLUSION:** Disturbances in the integration between the LC-DMC pathway impair memory encoding, highlighting the importance of integration for aversive memory acquisition. Neuronal recordings revealed repolarizing currents that may influence overall neuronal communication. Finally, the telencephalic cortex of *T. hispidus* shows functional homology with the mammalian hippocampus, and the findings of this study contribute to the knowledge of memory neurobiology and neuronal evolution characteristics in different groups of vertebrates.

Keywords: Electrophysiology, Reptiles, Hippocampus, Learning

Resumo para a Sociedade

INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO UNITÁRIO DE NEURÔNIOS. Heitor Franco Santos, 2023.

A capacidade de formar e evocar memórias são processos importantes na vida dos animais. Ao longo das últimas décadas, muitos estudos foram desenvolvidos, com diferentes animais, para se conhecer sobre os mecanismos envolvidos nas diferentes etapas dos processos de memória. Compreender como a memória ocorre em outros animais, que não apenas os humanos ou seres muito semelhantes a eles, possibilita um entendimento mais amplo desses processos ao longo da evolução das espécies e, inclusive, podem nos ajudar a compreender possíveis problemas relacionados à memória dos animais. Para estudar essas memórias os pesquisadores utilizam diversas técnicas, entre elas, testes comportamentais, análises morfológicas de estruturas cerebrais, avaliações moleculares, manipulações farmacológicas e registros das atividades elétricas do cérebro dos animais. Esta última técnica é muito utilizada em humanos através do eletroencefalograma. Entretanto, alguns pesquisadores querendo compreender os processos fisiológicos de memórias aversivas em outros grupos de animais, começaram a realizar avaliações da atividade elétrica cerebral em lagartos.

Seguindo essa ideia, nosso grupo de pesquisa implantou eletrodos para coletar atividades elétricas do cérebro de uma lagartixa, chamada cientificamente de *Tropidurus hispidus*, quando exposta a um gato doméstico, que é considerado um predador natural dessa lagartixa. Os experimentos também contaram com a injeção de uma droga capaz de bloquear a atividade de estruturas cerebrais e, essa droga, foi injetada em alguns animais antes serem expostos ao gato, em outros, logo após observarem o gato e para um outro grupo de animais, minutos antes de serem reexpostos ao ambiente que no dia anterior eles viram o gato. Esse projeto possibilitou um maior entendimento de como áreas do cérebro dessa espécie de lagarto, envolvidas com o processo de memória, atuam. Nós verificamos que quando uma área envolvida com o processamento de informações visuoespaciais era bloqueada, a atividade elétrica de uma outra área do cérebro que atua no processo de aquisição de memórias aversivas era diminuída, mostrando a participação desta estrutura, principalmente, na etapa inicial do processamento da memória. Além disso, observamos que o registro elétrico desta área apresentou maior atividade em uma frequência elétrica mais baixa, semelhante ao que se observa no cérebro de mamíferos quando estão em repouso.

Depois dessa etapa nós decidimos conhecer um pouco mais sobre as células que estão nesta área cerebral envolvida com a formação de memória, para compreender o comportamento das células durante o experimento anterior. Sendo assim, removemos esta estrutura do cérebro de alguns animais, separamos as células e através de equipamentos específicos registramos a atividade elétrica de algumas das células. Descobrimos que um tipo particular de célula (neurônio), chamado neurônio piramidal, que está presente na estrutura estudada, apresenta características biofísicas, como o potencial de membrana e variedade de correntes semelhantes ao que é observado em outros animais. Essa caracterização é bem preliminar, mas abre perspectivas para novos estudos relacionados ao papel dessas células nos processos de memória.

O presente estudo nos ajuda a entender melhor como a memória funciona em diferentes tipos de animais e trazem novas descobertas à neurociência, contribuindo para nossa compreensão geral do funcionamento do cérebro.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados extraídos da análise de dados funcionais através de componentes principais, do CDM.	50
Tabela 2 - Dados extraídos da análise de dados funcionais através de componentes principais, do CL	51
Tabela 3: Resumo dos resultados através da análise do espectro de potência	76
Tabela 4 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\beta$).....	78
Tabela 5 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\gamma_m$)	78
Tabela 6 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\gamma_M$).....	79
Tabela 7 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\beta$).....	79
Tabela 8 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\gamma_m$)	80
Tabela 9 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\gamma_M$).....	80
Tabela 10: Resumo dos resultados acerca da coerência e valor de VFF	81
Tabela 11 – Resumo dos resultados sobre o acoplamento de fase amplitude (AFA)	91
Tabela 12 – Índices de correlação das componentes principais com as variáveis	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama esquemático de cortes coronais do telencéfalo de diferentes espécies de vertebrados.....	11
Figura 2 – Diagrama da variação de potencial de membrana.....	14
Figura 3 – Características do potencial de membrana induzidas pela interação dipolo neuronal.	15
Figura 4 – Vias sensório visuais com o córtex lateral.	27
Figura 5 – Delineamento experimental	32
Figura 6 – Padrão de referência.....	34
Figura 7 – Visão da distribuição dos eletrodos no telencéfalo do <i>T. hispidus</i>	34
Figura 8 – Lagarto com eletrodos implantados.	35
Figura 9 – Protocolos de registro do neurônio	38
Figura 10 – Fotos de neurônio do córtex reptiliano.....	38
Figura 11 – Caracterização das bandas de frequências para análise do sinal eletrofisiológico no domínio da frequência.	44
Figura 12 – Tempo de congelamento	50
Figura 13 – Análise temporal dos dados do córtex dorsomedial (CDM).....	53
Figura 14 – Análise temporal dos dados do córtex lateral (CL).....	54
Figura 15 – Frequência relativa presente nos registros eletrofisiológicos.....	55
Figura 16 – Sinal bruto.	56
Figura 17 – Fragmentação do sinal eletrofisiológico para as bandas.....	56
Figura 18 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de aquisição de memória aversiva.	62
Figura 19 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), durante o processo de aquisição de memória aversiva.	63
Figura 20 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de aquisição de memória aversiva.	64
Figura 21 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex lateral (CL), durante o processo de aquisição de memória aversiva.	65
Figura 22 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de consolidação de memória aversiva.....	66
Figura 23 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), no processo de consolidação de memória aversiva.	67

Figura 24 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de consolidação de memória aversiva.....	68
Figura 25 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex lateral (CL), durante o processo de consolidação de memória aversiva.	69
Figura 26 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de evocação de memória aversiva.....	70
Figura 27 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), durante o processo de consolidação da memória aversiva.	71
Figura 28 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), no processo de evocação da memória aversiva.....	72
Figura 29 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo muscimol (MUS) para o córtex lateral (CL), no processo de evocação da memória aversiva.	73
Figura 30 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), durante o processo de aquisição.	74
Figura 31 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), durante o processo de consolidação.....	75
Figura 32 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), durante o processo de evocação.....	76
Figura 33 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de aquisição de memória aversiva.....	82
Figura 34 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de consolidação de memória aversiva.....	83
Figura 35 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de evocação de memória aversiva.....	84
Figura 36 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-beta) dos grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex dorsomedial (CDM), durante os processos de memória.	85
Figura 37 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-gama) dos grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex dorsomedial (CDM), durante os processos de memória.	86
Figura 38 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-beta) para os grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex lateral (CL), durante os processos de memória.	86

Figura 39 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-gama) para os grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex lateral (CL), durante os processos de memória.	87
Figura 40 – Acoplamento fase-amplitude do grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino (TR) e teste (TT), durante o processo de aquisição de memória aversiva.	88
Figura 41 – Acoplamento fase-amplitude do grupo controle (CTL_CON) e muscimol (MUS_CON), do núcleo córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino (TR) e teste (TT), durante o processo de consolidação de memória aversiva.	89
Figura 42 – Acoplamento fase-amplitude do grupo controle (CTL_EVO) e muscimol (MUS_EVO), do núcleo córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino (TR) e teste (TT), durante o processo de evocação de memória aversiva.	90
Figura 43 – Avaliação do efeito do muscimol sobre processos mnemônicos.	93
Figura 44 – Caracterização do perfil das correntes iônicas em neurônios piramidais.	94
Figura 45 – Descrição dos tipos de movimento.	119
Figura 46 – Número de movimentos realizados na ambientação (AMB) e exposição (EXP)	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AFA – acoplamento de frequência-amplitude
- AMB – ambientação
- ANOVA – Análise de variância
- CA1 – corno de ammon 1
- CA3 – corno de ammon 3
- CD – córtex dorsal
- CDM – córtex dorso medial
- CE – córtex entorrinal
- CL – córtex lateral
- CM – córtex medial
- CTL – Grupo Controle
- CTL_AQ – Grupo Controle (aquisição)
- CTL_CON – Grupo Controle (consolidação)
- CLT_3 – Grupo Controle (evocação)
- DEP – densidade do espectro de potência
- EA – estímulo aversivo
- EEG – eletroencefalograma
- ECoG – eletrocorticograma
- EC – estímulo condicionado
- EI – estímulo incondicionado
- EN – estímulo neutro
- ER – estímulo-resposta
- EXP – exposição
- GD – giro-denteado
- IM – Índice de modulação
- MUS – Grupo Muscimol
- MUS_AQ – Grupo Muscimol (aquisição)
- MUS_CON – Grupo Muscimol (consolidação)
- MUS_EVO – Grupo Muscimol (evocação)

ON – Óxido nítrico

PCL – potencial de campo local

PLD – potenciação de longa duração

PSD – power spectrum density

RC – resposta condicionada

RDV – região dorso ventricular

ROI – região objeto de interesse

S - subículum

SMP – sinapse de memória plástica

TFD – Transformada de Fourier Discreta

VFF – Valor de frequência de fase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1	Memória.....	4
2.1.1	Memória Aversiva	6
2.1.2	Memória em Répteis.....	7
2.2	O hipocampo em vertebrados não-mamíferos	9
2.3	A eletrofisiologia da comunicação cerebral.....	13
2.3.1	Excitação e inibição da dinâmica cerebral.....	17
2.3.2	Canais iônicos como resistores da atividade neuronal.....	20
2.3.3	A dinâmica oscilatória	23
2.4	<i>Tropidurus hispidus</i> como modelo animal.....	25
3	OBJETIVOS	28
3.1	Geral:	28
3.2	Objetivos Específicos	28
4	MÉTODOS	29
4.1	Declaração ética.....	29
4.2	Animais para experimento	29
4.3	Acomodação e criação	29
4.4	Drogas.....	30
4.5	Delineamento experimental	30
	Experimento I: avaliação da integração cortical em tarefa de memória aversiva	30
4.5.1	Cirurgia estereotáxica	32
4.6	Registro eletrofisiológico durante tarefa mnemônica.....	35
4.6.1	Microinjeção	36
	Experimento II: Caracterização eletrofisiológica em modelo unitário de neurônio.....	36
4.6.2	Preparo de tecido <i>in-vitro</i> para registro eletrofisiológico	36
4.6.3	Dissociação aguda de neurônios	37

4.6.4	Registro de neurônios	37
4.7	Análise dos dados	39
4.7.1	Vídeos comportamentais.....	39
4.7.2	Sinal eletrofisiológico.....	40
4.7.2.1	Análise no domínio do tempo – análise de dados funcionais.....	40
4.7.2.2	Análise no domínio das frequências - Caracterização das bandas de frequências	42
4.7.2.3	Análise de densidade de espectro de potência.....	44
4.7.2.4	Análise de coerência.....	45
4.7.2.5	Análise de interação e fase.....	45
4.7.2.6	Avaliação das variáveis comportamentais com as do domínio da frequência.....	47
4.7.2.7	Descrição do padrão biofísico da membrana do neurônio piramidal	48
5	RESULTADOS	49
5.1	Análise comportamental	49
5.2	Análise no domínio do tempo.....	50
5.3	Análise no domínio das frequências	55
5.4	Densidade de espectro de potência (DEP).....	57
5.4.1	DEP - Grupo controle	57
5.4.2	DEP – Grupo MUS	58
5.4.3	Interação entre CTL e MUS.....	60
5.5	Coerência de sinal.....	77
5.5.1	Coerência para o Grupo CTL.....	77
5.5.2	Coerência para o Grupo MUS	77
5.5.3	Coerência entre as fases dos núcleos	78
5.6	Acoplamento de frequência cruzada (AFA).....	85
5.7	A aquisição prejudicada pelo muscimol.....	91
5.8	Análise do sinal unitário de neurônios piramidais.....	93
6	DISCUSSÃO	95

7	CONCLUSÃO	102
8	LIMITAÇÃO E PERSPECTIVA	103
	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICE 1	119
	APÊNDICE 2	121
	ANEXO A	125
	ANEXO B	126

1 INTRODUÇÃO

Os estudos de fisiologia animal comparada objetivam a compreensão das homologias entre diferentes grupos de animais e seu papel evolutivo entre as espécies. Comportamentos preservados ao longo da evolução podem ser analisados sob diversas abordagens, entre elas, as anatômicas, moleculares e fisiológicas. Um importante mecanismo fisiológico para os animais é a memorização, pelo cérebro, de experiências (MCGAUGH, 2000).

A memória pode ser analisada quanto ao tempo, tipo e conteúdo. Ela é influenciada por emoções que modulam a intensidade com a qual as memórias foram consolidadas, o medo é um componente emocional associativo à memória (FERBINTEANU, 2019). O medo é um componente preservado nos vertebrados, dos mamíferos aos peixes (FONT, 2019; NAIM *et al.*, 2020). O medo é capaz de promover respostas fisiológicas, que pode intensificar as vias neuronais responsáveis por sua formação e que contribui para a fixação da memória (ASOK; KANDEL; RAYMAN, 2019). Outro importante mecanismo está associado aos estímulos sensoriais como a visão, que auxiliam tanto no processo de formação, quanto na evocação e fortalecem as vias mnemônicas (CHANG; HUANG, 2012). Desse modo, o contexto associativo é capaz de transmitir características mnemônicas nos processos de aquisição, consolidação e evocação das mesmas (JOHANSEN *et al.*, 2011).

Ao compreender as etapas de formação, consolidação e evocação da memória é possível explorar características que contribuem ao entendimento de seus processos, tendo em vista que a aquisição definimos como a aprendizagem, a consolidação como os processos adaptação neuronal e evocação o ato de recordar os fatos (LUCHKINA; BOLSHAKOV, 2019). Quando essa investigação tem uma perspectiva evolutiva, proporciona uma compreensão mais detalhada de como se desenvolveram os processos mnemônicos. Um exemplo, é a compreensão desses processos em répteis.

O encéfalo reptiliano é reconhecido por sua alta plasticidade e capacidade regenerativa, sendo considerado o principal ancestral que apresenta a organização morfofuncional mais próxima entre aves e mamíferos (BINGMAN; RODRÍGUEZ; SALAS, 2016; PIMENTEL *et al.*, 2021; STRIEDTER, 2016). As respostas dos répteis a situações extremas revelam condições que são ancestrais sobre adaptações neuro-funcionais aos comportamentos observados em mamíferos e aves (CARLSON, 2004).

Nos répteis, o encéfalo possui as áreas do telencéfalo, mesencéfalo, rombencéfalo e cerebelo. O córtex do telencéfalo está associado ao hipocampo reptiliano, subdividido em regiões do córtex medial, dorso medial e dorsal, que apresentam homologia às regiões do

hipocampo mamífero (NAUMANN *et al.*, 2015; PIMENTEL *et al.*, 2011). Além deles, há o córtex lateral que foi declarado como uma importante via de interpretação sensorial, que o torna homólogo ao córtex entorrinal (MARTÍNEZ-GARCÍA *et al.*, 1986). A comunicação da região do córtex lateral com os córtices dorsal, dorsomedial e medial, parecem homólogas à integração do córtex entorrinal e hipocampo mamífero (NAUMANN; LAURENT, 2017; SQUIRE; STARK; CLARK, 2004). Entende-se, que o córtex lateral participa como um eixo de interpretação e direcionamento da informação principalmente visual, mais evidências científicas são necessárias para saber qual seria a importância da região para as respostas comportamentais. De maneira semelhante, tem se buscado compreender essa relação sensorio-cognitiva e de comunicação integrada entre regiões do cérebro em mamíferos (SYMANSKI *et al.*, 2020), como a dependência do hipocampo com a formação e evocação de memórias explícitas com outras áreas como o córtex entorrinal e neocórtex mamífero.

Avaliar a comunicação entre regiões do cérebro é uma ferramenta chave para esclarecer sobre mecanismos da formação da memória (MUTHUKRISHNAN; SONI; SHARMA, 2020). Em répteis é necessário compreender acerca da integração entre os núcleos do córtex e avaliar como ocorre a participação nos processos de formação da memória em répteis para estreitar conhecimentos acerca de características evolutivas. Além disso, os estudos de caracterização prévia do hipocampo reptiliano, apresentam alta aglomeração de neurônios piramidais no córtex dorsomedial (PIMENTEL *et al.*, 2011). Acreditamos que a atividade destas células possui papel importante no processamento de informações mnemônicas e da resposta a vias eferentes do córtex lateral e dorsal. A região dorsomedial sendo de transição entre o medial e dorsal, integra a maior quantidade de neurônios piramidais, os quais no hipocampo de mamíferos estão associados ao processo de aquisição e consolidação da memória (JARRARD, 1993; WILMOT; PUHGER; WILTGEN, 2019).

Uma forma de se investigar os processos de memória é através da atividade elétrica dos neurônios em campo, visto que os potenciais evocados podem estar relacionados a eventos e como a intervenção sobre a atividade dos núcleos podem alterar respostas comportamentais (HILLYARD, 2016; KNYAZEV, 2007; NORIMOTO *et al.*, 2020). Além disso, investigar a atividade elétrica do neurônio isolado, pode nos ajudar a compreender acerca de semelhanças e diferenças entre classes evolutivas e como esses aspectos podem contribuir para as respostas da interação entre os neurônios (EINEVOLL *et al.*, 2013). Visto que, já foram descritas características preservadas em neurônios de mamíferos que foram encontradas em répteis (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001).

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido pesquisas na área de fisiologia comparada sobre os aspectos neurais, comportamentais e mnemônicos na espécie de lagarto tropical *Tropidurus hispidus* há duas décadas (MACEDO-LIMA *et al.*, 2016; MARCHIORO *et al.*, 2005, 2012; MEDEIROS, 2019; PIMENTEL *et al.*, 2021; SANTOS, 2018, 2021). Em estudos recentes (SANTOS, 2018, 2021), foi demonstrado que o córtex dorsal, homólogo ao hipocampo mamífero (NAUMANN; LAURENT, 2017), possui papel importante nos processos de memória aversiva nessa espécie, o modelo de avaliação de memória foi realizado através de inibição da atividade e registro eletrofisiológico do córtex dorsal em etapas sobre os processos de memória. Mas ainda não está clara a participação do córtex dorsomedial e lateral.

Nesse sentido, afim de investigar sobre as alterações da atividade eletrofisiológica do hipocampo reptiliano nos processos de memória, foi levantada a questão se o córtex lateral pode influenciar sobre a atividade do córtex dorsomedial nos processos da memória. Além disso, no intuito de compreender quais as características eletrofisiológicas dos neurônios piramidais do córtex dorsomedial foi dado início ao processo de caracterização biofísica dos neurônios piramidais do córtex dorsomedial do *T. hispidus*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Memória

A reprodução de um saber, só é possível porque possuímos memória. A memória é definida como a capacidade de reter informações e recuperá-las, envolvendo uma sequência de processos bem estabelecidos: aquisição, consolidação e evocação de informações (IZQUIERDO, 1989). A aquisição representa a fase em que são selecionadas as informações que serão eventualmente armazenadas. Durante a fase de consolidação, as informações selecionadas passam por um sistema modulador que podem atribuir maior ou menor grau de seletividade, incluindo alterações plásticas no sistema nervoso dos animais. Por sua vez, a fase de evocação consiste em recordar algo que foi armazenado (IZQUIERDO; MEDINA, 1997).

Os processos que contemplam a memorização estão associados aos eventos de comunicação cerebral. É necessário um centro integrador de informações, que possua a capacidade de armazenar e utilizar dessas informações. Essa é a função da memória: usar de informações aprendidas (MCGAUGH, 2000). Cada indivíduo aprende e aplica os conhecimentos de maneira única, por isso, existe uma diversidade de respostas comportamentais que são reflexos da interpretação da informação aprendida. Partindo desse contexto, pode-se compreender porque indivíduos semelhantes desenvolvem respostas diferentes ao mesmo estímulo. Por exemplo, numa situação de risco eminente, vai existir os que fogem, lutam ou congelam e ainda há aqueles que desenvolvem transtornos traumáticos (JOHANSEN *et al.*, 2011).

As memórias podem ser classificadas quanto a natureza (implícita ou explícita) e quanto ao tempo (curta ou longa duração) (FERBINTEANU, 2019). As memórias explícitas, também conhecidas por memórias declarativas, geralmente narram as vivências do indivíduo (SCHACTER, 2012). Já o modo como reagimos, que concerna da interpretação e resposta que damos àquela situação, é como definimos a memória implícita (BAILEY; KANDEL; HARRIS, 2015). Por sua vez, as memórias implícitas podem ser subclassificadas em memórias de procedimentos ou de condicionamento, como tocar um instrumento musical ou reagir a um estímulo aversivo (memórias aversivas) (NURDAL; FAIRCHILD; STOTHART, 2021). Memórias de curta duração são memórias que nos ocorrem para enfatizar situações que vivenciamos numa jornada de segundos a poucas horas. Elas são resistentes a eventos que poderiam prolongar a memorização e não caracterizam fenômenos neuronais que modificam o cérebro (ASOK *et al.*, 2019). Já a memória de longa duração envolvem uma escala de tempo

maior e são mediadas por fenômenos que ocorrem no cérebro para armazená-las, como eventos de plasticidade neuronal, potenciação de longa duração e formação de engramas (NEVES; COOKE; BLISS, 2008). Mesmo assim, a associação entre as memória de curto prazo e longo prazo é necessária, pois a de curto prazo pode ser um gatilho para a formação da memória de longo prazo, já que as vias de ação das duas podem ser providas da mesma fonte neuronal (KANDEL; SQUIRE, 2000; MCGAUGH, 2000).

A função neuronal está envolvida nos processos de memória e isso contribuiu com o sucesso evolutivo de vários organismos (SHETTLEWORTH, 2010). Durante as experiências que os organismos vivenciam, o comportamento pode ser alterado em respostas às experiências armazenadas. Assim, percebe-se que o processo de aprendizado é inerente ao sujeito que está em constante adequação (ROBERTS, 2019). No processo de aprendizagem, a comunicação promovida pelos neurônios passa a ser intensificada e redes de comunicação podem ser moldados em um processo plástico que favorece a memorização (BABILONI *et al.*, 2009).

A principal via de plasticidade é a integração sensorial e interpretação sobre os estímulos. Os estímulos sensoriais, projetam-se aos núcleos encefálicos responsáveis pela resposta e ativam a interpretação da informação (HILLYARD, 2016). O estímulo visual, por exemplo, induz resposta plástica na consolidação de memória (SCHURGIN; FLOMBAUM, 2018) é processado e passa pelo tálamo sensorial que direciona a informação para o hipocampo. O hipocampo que é o centro da formação das memórias declarativas, intensifica o processo de consolidação (IZQUIERDO; MEDINA, 1997). No hipocampo, essa informação é processada continuamente (IZQUIERDO *et al.*, 1999), gerando alterações morfofisiológicas, como o brotamento sináptico, aumento da excitabilidade neural a eventos (SANTIAGO, RAMÓN; CAJAL, 1893).

Além da integração sensorial, outro fator que aumenta significativamente a qualidade dos processos de memória é o aspecto emocional (IZQUIERDO; MEDINA, 1997; METZ, 2007). As emoções são gatilhos de associação que respondem a medida que os eventos são intensificados características como felicidade, prazer, estresse, raiva, ou medo (SAGASPE; SCHWARTZ; VUILLEUMIER, 2011). O núcleo de neurônios mais envolvido com as emoções é a amígdala e esse núcleo possui uma relação estreita com a intensidade da formação da memória (IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016; SAH *et al.*, 2003). A amígdala é um dos centros de resposta emocional e processa as emoções como o medo em humanos ou comportamento tipo medo em outros animais (ASOK; KANDEL; RAYMAN, 2019). A

característica de resposta ao medo é essencial para se definir o conceito de memória associativa, em que pode-se definir a memória aversiva (DALMAY *et al.*, 2019).

Todos esses aspectos apresentados moldam as características do indivíduo. Assim, as novas experiências serão dependentes das memórias anteriores (DEBANNE; INGLEBERT; RUSSIER, 2019). Para isso, existe um tipo de memória que auxilia nessa transição, a memória de trabalho. Ela intermedia entre a tomada de decisão e as experiências consolidadas. (DUDAI; KARNI; BORN, 2015; SQUIRE, 2004).

2.1.1 Memória Aversiva

Na luta pela sobrevivência, os seres vivos estão continuamente avaliando ameaças e riscos. Ao responder a estes, eles muitas vezes recorrem a respostas defensivas reflexas que sinalizam padrões como luta, ou fuga, ou congelamento (ROELOFS, 2017). Estas respostas não são apenas reações momentâneas, mas frequentemente deixam um resíduo duradouro na forma de uma memória sólida.

A memória aversiva tem aplicações importantes na compreensão de transtornos relacionados ao trauma, como transtorno de estresse pós-traumático, pânico e fobias. Ao entender como os organismos atribuem significado aversivo a certos estímulos, podemos ganhar uma maior compreensão de como as memórias traumáticas se formam e como elas podem ser tratadas (LIKHTIK; JOHANSEN, 2019). Associado a esse tipo de memória, há o medo que é uma resposta fisiológica de caráter aversivo e associativo (TSVETKOV *et al.*, 2015). O medo é uma emoção poderosíssima que pode desenvolver gatilhos para a formação de memória. Esta associação de respostas aversivas/amedrontadoras a certos estímulos, está intrinsecamente ligada à sobrevivência.

O conceito de estímulo condicionante, nos ajuda a entender como essas memórias associativas se formam (WASSERMAN; MILLER, 1997). O organismo responde a fortes estímulos ativando as vias mnemônicas, e essa exposição pode levar à formação de uma memória associativa (ASOK; KANDEL; RAYMAN, 2019). Isto é particularmente evidente em situações que envolvem trauma, onde a memória do evento traumático está fortemente associada ao agente estressor. A resposta ao aversivo é demonstrada em todos os animais (LEDOUX, 2012) e pode ser compreendido dois fatores: o agente estressor e o contexto aversivo. O agente estressor é o componente ativo, que interage e leva ao mecanismo de luta-fuga-congelamento (LEDOUX, 2014). Já o contexto aversivo, pode ser representado pelo

ambiente em que ocorre o encontro. Essas são respostas comportamentais e fisiológicas da condição associada ao contexto aversivo.

A formação da memória aversiva, que está intrinsecamente associada às vias neurofisiológicas de consolidação, envolve a ativação da amígdala e de regiões corticais (LEE; LEE; KIM, 2017). Essa interação contribui para a formação do engrama, que é o traço da sinalização consolidada no cérebro (JOSSELYN; TONEGAWA, 2020). Apesar do nosso conhecimento avançado sobre a formação da memória aversiva em mamíferos, as funções mnemônicas em grupos menos derivados, como os répteis, são pouco compreendidas. Alguns estudos sugerem que os mecanismos de formação de memória podem ter sido conservados dos répteis para os mamíferos (FONT, 2019; LADAGE *et al.*, 2012b; SANTOS, 2016), não está claro como essas estruturas se integram e participam dos diferentes mecanismos fisiológicos dos processos de memória.

Dessa forma, estudos devem focar na comparação entre a função do hipocampo mamífero e o hipocampo reptiliano, para entender melhor a evolução desses processos de formação de memória. Essas pesquisas ajudariam a esclarecer como diferentes organismos se adaptaram para responder a estímulos aversivos em seus respectivos ambientes e como essas adaptações influenciaram os mecanismos dos processos de memória.

2.1.2 Memória em Répteis

A formação de memória em répteis tem sido extensivamente investigada em diversos contextos comportamentais, como localização espacial, interação social, contexto aversivo, não-aversivo e discriminação de cores (DAVIS; BURGHARDT, 2011; LEAL; POWELL, 2012; GUTNICK; WEISSENBACHER; KUBA, 2020). A investigação sobre aspectos mnemônicos em répteis demonstra que o estresse é fator ponderador da aprendizagem aversiva (GIACHERO; CALFA; MOLINA, 2015; THAKER *et al.*, 2010; CLAUNCH *et al.*, 2017).

A avaliação da formação de memória em répteis apresenta desafios únicos, principalmente devido à incompatibilidade entre protocolos típicos de laboratório, desenvolvidos para mamíferos, e as necessidades ambientais dessas espécies. No entanto, é importante destacar que os répteis são criaturas adaptadas a enfrentar e resolver desafios em ambientes naturais ou semi-artificiais, o que pode resultar em incompatibilidade entre os protocolos típicos de laboratório desenvolvidos para mamíferos e as capacidades cognitivas dessas espécies (KANG; GOULET; CHAPPLE, 2018).

Um estudo explorou a formação de memória aversiva em filhotes de lagartos, utilizando um condicionamento alimentar em diferentes pratos com características de palatabilidade distintas. Eles observaram que os lagartos foram capazes de memorizar a disposição original dos alimentos e a sua palatabilidade, evidenciando uma capacidade de aprendizagem e formação de memória em resposta a estímulos aversivos. Os lagartos demonstraram ser capazes de memorizar a disposição original dos alimentos e a sua palatabilidade, sugerindo uma capacidade de aprender e formar memórias em resposta a estímulos aversivos (SHANBHAG; AMMANNA; SAIDAPUR, 2010).

Em outro estudo, foi demonstrada a capacidade de tartarugas aquáticas para a aprendizagem social por meio de condicionamento observacional (DAVIS; BURGHARDT, 2011). Por outro lado, uma análise feita com lagartos da espécie *Eulamprus quoyii* revelou que, em ambientes semi-naturais, esses animais conseguem localizar um refúgio seguro após um estímulo aversivo, mantendo essa memória por um período de 3 a 4 dias (NOBLE; CARAZO; WHITING, 2012). Clark et al. (2014) também demonstraram capacidades cognitivas sofisticadas em lagartos, neste caso na espécie *Bassiana duperreji*. Estes lagartos parecem ser capazes de realizarem associações complexas, como discriminação de cores e determinação de escolha espacial, habilidades úteis na solução de labirintos e na resposta a ameaças predatórias (KOZLOWSKA et al., 2015). Esses estudos ilustram uma gama diversificada de capacidades cognitivas e de memória em répteis, embora o entendimento completo desses processos ainda esteja em desenvolvimento. Essas descobertas ampliam a nossa compreensão da complexidade cognitiva possível nos répteis

As evidências de que répteis são capazes de formar memória são reforçadas através do lagarto *Psammophilus dorsalis*, que é capaz de encontrar um refúgio seguro. Quando submetido à abordagem do teste de aprendizagem reversa, o *P. dorsalis* executa com sucesso a tarefa. O resultado provoca a evocação da memória e provavelmente promove o processo de reconsolidação e ressignificação da memória formada, que reflete em adaptação na aprendizagem e comportamento (BATABYAL; THAKER, 2019).

Pesquisas realizadas com o lagarto *Eulamprus quoyii* têm fornecido insights valiosos sobre a formação de memória em répteis. Os comportamentos demonstrados por esses lagartos exibem uma flexibilidade impressionante em resposta a diferentes paradigmas de aprendizagem. Foram observadas habilidades de aprendizagem espacial, aprendizagem social de filhotes a partir de adultos, manipulação de objetos artificiais e discriminação de cores como parte de um regime de recompensa condicionada (NOBLE; BYRNE; WHITING, 2014).

Paralelamente, estudos com o lagarto *Uta stansburiana* têm mostrado resultados promissores na busca por entender a formação de memória espacial em répteis. Este lagarto tem sido usado como um modelo experimental pelos pesquisadores Ladage et al. (2012, 2017), reforçando a compreensão do processamento de memória nesses animais.

Além disso, estudos com o *Tropidurus hispidus* têm mostrado resultados promissores em relação à formação de memória em répteis. Em pesquisas recentes, foram observadas semelhanças entre o córtex telencefálico do *T. hispidus* e o hipocampo reptiliano, bem como núcleos que se assemelham às regiões neocorticais. Essas descobertas ressaltam a importância funcional de certos núcleos corticais no processamento de informações. Por exemplo, o córtex medial e dorsal e amígdala do *T. hispidus* mostraram expressão de genes imediatos relacionados à memória (SANTOS, 2016), o córtex dorsal também tem sido associado a todos os processos de memória (SANTOS, 2018). Além disso, observou-se um padrão eletrofisiológico caracterizado pela faixa de delta e aumento da interação entre delta e gama em um modelo de memória aversiva (SANTOS, 2021). Esses estudos fornecem *insights* valiosos sobre as adaptações morfofisiológicas do *T. hispidus* e seu papel na formação de memória."

Em suma, estes estudos têm contribuído para uma compreensão mais aprofundada do funcionamento cognitivo em répteis. Além disso, as pesquisas têm destacado a relevância da homologia estrutural e funcional do córtex entre diferentes espécies. Essas descobertas podem fornecer informações importantes sobre as semelhanças e diferenças nos comportamentos e habilidades cognitivas entre organismos da mesma espécie (coespecíficos) e de diferentes espécies (heteroespecíficos). Estas comparações podem trazer novas perspectivas para o estudo das habilidades cognitivas e da formação da memória em um amplo espectro de espécies animais.

2.2 O hipocampo em vertebrados não-mamíferos

O encéfalo vertebrado é uma estrutura complexa que desempenha um papel crucial em processos cognitivos e comportamentais. Embora haja uma grande variedade de espécies de vertebrados, as diferentes regiões do encéfalo são geralmente homólogas entre as diferentes classes. Uma das regiões mais estudadas é o telencéfalo, que é a maior porção do encéfalo dos mamíferos e se subdivide em dois hemisférios e é responsável pela grande maioria dos comportamentos e respostas adaptativas (BRISCOE; RAGSDALE, 2019). Em répteis, aves e mamíferos compreende áreas denominadas de Pálio de onde se deriva o telencéfalo (Figura 1)

(BINGMAN; RODRÍGUEZ; SALAS, 2016; STRIEDTER, 2016). Por sua vez, este se subdivide em porções diferentes e que, apesar de manter algumas funções em comum, espécies mais derivadas passaram a apresentar novas funções associadas a atividade neural dessas áreas.

Nos répteis, o pálio dá origem ao telencéfalo que possui o córtex e é subdividido em três folhetos laminares como ocorre com o hipocampo mamífero (BRISCOE; RAGSDALE, 2019; MARTÍNEZ-GARCÍA; MARTÍNEZ-MARCOS; LANUZA, 2002). Na primeira camada, é comum registrar a presença de interneurônios dispersos, que formam a camada mais espessa e se compilam no primeiro plexo (plexiforme externa). A segunda camada, segundo plexo, contém uma grande quantidade de corpos celulares, que constituem uma densa camada de neurônios excitatórios e somáticos (camada celular). A terceira camada, o plexiforme interno, compõe a disposição mais discreta e estreita na direção do córtex medial, constituído por sua maioria por interneurônios (NAUMANN; LAURENT, 2016). Nos mamíferos, a região do pálio dá origem ao surgimento do neocórtex cerebral e do hipocampo, esse que apresenta características mais próximas do córtex reptiliano. O córtex do telencéfalo é responsável pela grande maioria dos comportamentos e respostas cognitivas em mamíferos e está conectado ao diencefalo (MELLEU *et al.*, 2013).

O diencefalo, em mamíferos é dividido em três partes principais: o tálamo, o hipotálamo e o epitálamo. O tálamo é responsável pela integração de informações sensoriais e pela regulação do ciclo sono-vigília, enquanto o hipotálamo está envolvido em funções reguladoras, como a regulação do apetite, da sede, da temperatura corporal e do ciclo circadiano. O epitálamo é responsável pela regulação da glândula pineal e pela produção de melatonina, um hormônio importante na regulação do sono (LANUZA *et al.*, 1998). O tálamo também está presente nos répteis e para sua maioria, essa região é composta por núcleos que são responsáveis pela interação visual e da projeção da via visual para o telencéfalo dos répteis (MANGER; SLUTSKY; MOLNÁR, 2002; NAUMANN; LAURENT, 2017). Os répteis são animais com uma capacidade e resposta visual muito bem desenvolvida, o que favorece um campo de visão e dependência desse sistema sensorial, maior do que para outros grupos de animais (BELEKHOVA, 1985; NAUMANN; LAURENT, 2017).

Essa descrição permitiu que Colombo & Broadbent (2000) estabelecessem uma relação inicial entre o desenvolvimento do córtex não-mamífero e hipocampo mamífero através da equivalência ontogenética e funcional entre eles. A correspondência existente entre o córtex reptiliano e o hipocampo mamífero parece estar mais relacionada à função porque sua comunicação apresenta características evolutivamente preservadas (STRIEDTER, 2016). Essa

relação também pode ser observada ao analisar vias visuais, que fornecem aferências tanto para o hipocampo reptiliano quanto para o mamífero (BELEKHOVA, 1985).

A extensão do trato óptico possui correspondência com o colículo visual dos mamíferos, localizado no mesencéfalo, que também se comunica com o tálamo (NAUMANN *et al.*, 2015). Essa rede de informações integradas retino-talâmica possui extensa comunicação com a região dorso ventricular e afere ao córtex (KAAS, 2016). Em iguanas, já foi demonstrado que a região dorso ventricular é bem desenvolvida e apresenta conexão com vias sensoriais visuais em abundância e menor interação com os outros sentidos como tato e audição (MANGER; SLUTSKY; MOLNÁR, 2002).

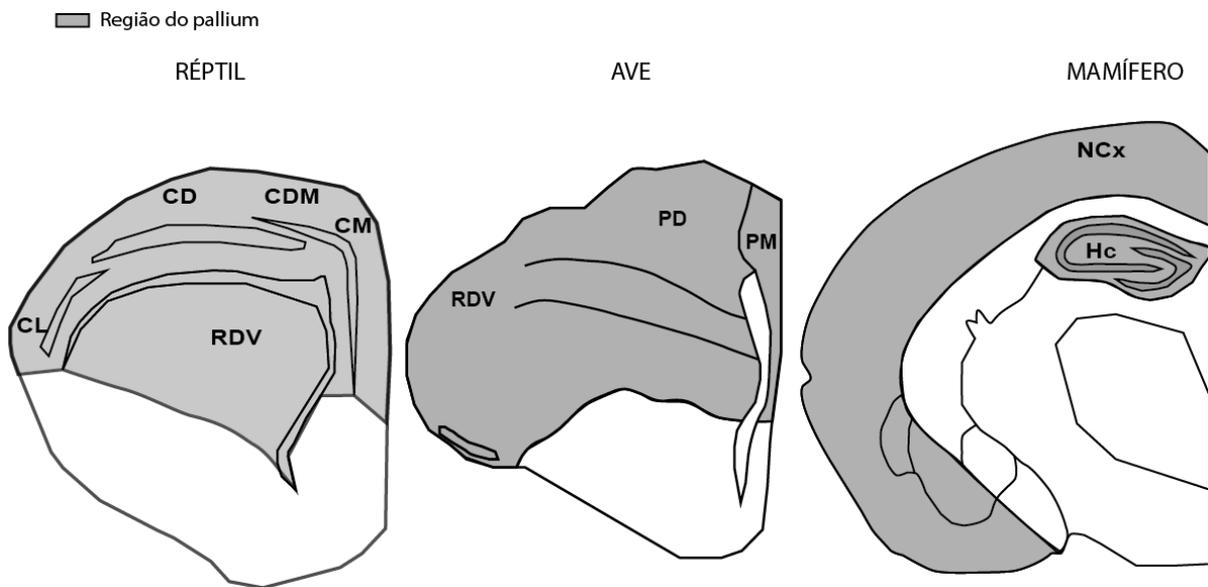


Figura 1 – Diagrama esquemático de cortes coronais do telencéfalo de diferentes grupos de vertebrados. Na imagem, destaca-se o pallium indicado pela cor cinza. Córtex dorsal (CD), córtex dorsomedial (CDM), córtex lateral (CL), córtex medial (CM), Hipocampo (Hc), neocórtex (Ncx), pálio dorsal (PD), pálio medial (PM), região ventricular dorsal (RDV). Fonte: adaptado de SUZUKI *et al.*, 2014.

O conhecimento sobre a origem e a diferenciação das regiões do encéfalo dos répteis é fundamental para compreendermos o córtex reptiliano. Essa compreensão aprofundada nos permite analisar as interações e comunicações entre as diferentes regiões cerebrais, proporcionando uma visão mais clara da morfologia típica do córtex reptiliano, bem como das suas vias de comunicação interna e aferências sensoriais. O córtex reptiliano, anteriormente, é segmentado em medial, dorsal e lateral (COSANS; ULINSKI, 1990). Essa segmentação permite avaliar as projeções sensoriais que se dirigem do núcleo somatossensorial no tálamo.

Por exemplo, é possível investigar as projeções da retina para o teto óptico, assim como dos núcleos geniculado lateral e esférico, que enviam vias indiretas e diretas para o córtex (REINER; KARTEN, 1985) onde se desenvolve a interpretação visual.

No âmbito funcional, cada região cortical do córtex reptiliano possui funções distintas. O córtex medial (CM), dorsomedial (CDM), dorsal (CD) e lateral (CL) apresentam características e desempenham papéis específicos na organização cerebral (STRIEDTER, 2016). Vale ressaltar que porções mais laterais estabelecem comunicação direta com regiões talâmicas, principalmente de regiões visuais. As vias de comunicação do CL projetam vias ao CD, CDM e CM, que se diferenciam por sua constituição morfológica (PIMENTEL *et al.*, 2011) e participam do processamento de estímulos visuais (YANG *et al.*, 2020). No córtex lateral já foi descrita a ocorrência de neurônios não piramidais e globulares (PIMENTEL *et al.*, 2011), esses neurônios são dos tipos colinérgicos e gabaérgico com aferências ao núcleo do dorsomedial (MARTÍNEZ-GARCÍA *et al.*, 1986). Esses neurônios desempenham um papel importante na transmissão de informações sensoriais para o processamento realizado nos núcleos dorsomedial e outras regiões do córtex reptiliano.

O volume do hipocampo também está relacionado com a maior quantidade de respostas comportamentais e capacidade cognitiva (ROTH; PRAVOSUDOV, 2009). Estudos compararam o desenvolvimento do córtex entre lagartos, criados em laboratório, desde o nascimento, com lagartos capturados na natureza e mostraram maior desenvolvimento do córtex dorsal dos animais capturados na natureza (territorialista e não territorialista), quando comparado aos de laboratório (LADAGE *et al.*, 2012a). A exposição ambiental, juntamente com a diversidade de estímulos, desempenha um papel importante no desenvolvimento do córtex e do hipocampo, resultando em uma maior plasticidade das regiões ativas e um aumento de volume, quando influenciado por fatores ambientais (ROTH *et al.*, 2012). O córtex medial e dorsal são importantes na habilidade de processamento espacial. Lesões em qualquer uma dessas áreas prejudicam as respostas fisiológicas, habilidades cognitivas e aprendizagem espacial (HAMPTON; SHETTLEWORTH, 1996).

No contexto ecológico, observa-se que o desenvolvimento do encéfalo varia com as situações vivenciadas e evidencia respostas comportamentais adaptativas. Isso pode variar entre indivíduos da mesma espécie ou populações distintas (LADAGE *et al.*, 2013). Assim, análises de sobrevivência de lagartos de nichos diferentes, demonstram desenvolvimento estrutural diferente dentro de mesmas espécies. Exemplo dessa divergência foi observada no lagarto *Uta stansburiana*, em que a dependência do volume cortical variou de forma dependente das

experiências ambientais vivenciadas, independente do comportamento ser territorialista, que é característico da espécie (LADAGE *et al.*, 2016).

Funcionalmente o hipocampo mamífero pode ser comparado ao córtex medial e dorsal dos répteis (NORTHCUTT; BUTLER, 1974; STRIEDTER, 2016). Foi descrito que o ancestral comum a esses dois grandes grupos, os amniotas, se desenvolveu nos animais vertebrados (SUZUKI; HIRATA, 2014) e preservaram características morfofuncionais dos córtices.

Estudos eletrofisiológicos têm evidenciado semelhanças no padrão de resposta elétrica em processos comportamentais similares, como o sono (BELEKHOVA; AKULINA, 1976; GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991; SHEIN-IDELSON *et al.*, 2016a; TODOROVA; ZUGARO, 2019). A compreensão das homologias entre as diferentes regiões do encéfalo vertebrado é de grande interesse para entender a evolução dos processos cognitivos e comportamentais. O estudo das homologias do encéfalo pode contribuir para a identificação dos processos moleculares e celulares envolvidos na geração de comportamentos complexos em diferentes espécies vertebradas.

2.3 A eletrofisiologia da comunicação cerebral

Um dos métodos de investigação para se compreender a atividade cerebral é através da eletrofisiologia. Nesse contexto, é importante indicar que existem métodos de avaliação de campo e registros de atividade a nível celular. Além disso, esses métodos se complementam em resposta, porque é possível compreender os diferentes estados da comunicação das células excitáveis.

A nível de neurônio é possível avaliar a características biofísicas do neurônio isolado como as características das correntes iônicas, alterações no potencial de membrana, limiar de excitabilidade, tipos de canais e íons presentes no neurônio e avaliar se a resposta foi excitatória ou inibitória. No entanto, quando é avaliado a nível de campo, em que é realizada a aquisição do sinal com base na região ou núcleo neuronal em questão, obtemos a resposta eletrofisiológica da soma de eventos oscilatórios de extensas comunicações neuronais (RAGHAVAN; FEE; BARKHAUS, 2019).

A aquisição de campo de vários registros simultâneos, deriva da integração de várias atividades sinápticas entre os neurônios (RAMA; ZBILI; DEBANNE, 2018). A principal razão para isso é que a integração sináptica é diversa o suficiente para permitir a soma de todos esses

pequenos eventos, que contribuem significativamente para o sinal registrado (BUZSÁKI, 2012), Figura 2.

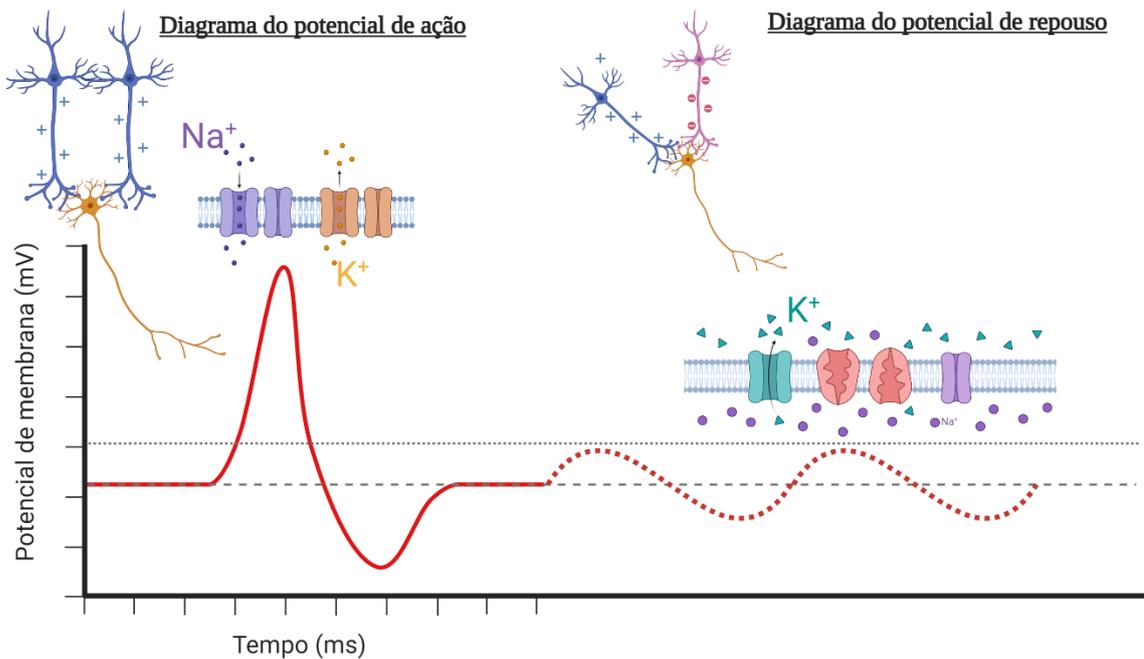


Figura 2 – Diagramas da variação de potencial de membrana. À esquerda é listrado um potencial dependente da condutância catiônica durante a deflagração do potencial de ação (Diagrama do potencial de ação) e à direita, um potencial de repouso (Diagrama do potencial de repouso). Fonte: autoria própria.

Os potenciais de ação, em geral, têm duração curta e não contribuem significativamente para o potencial de campo. No entanto, durante períodos de sincronia, excepcionalmente alta da atividade de pico, esses eventos breves se somam e geram uma forte assinatura no potencial de campo (Figura 3) (SCHOMBURG et al., 2012). O nível de sincronia dos eventos neuronais e entre regiões diferentes tem um impacto enorme para o potencial de campo (COLGIN, 2011).

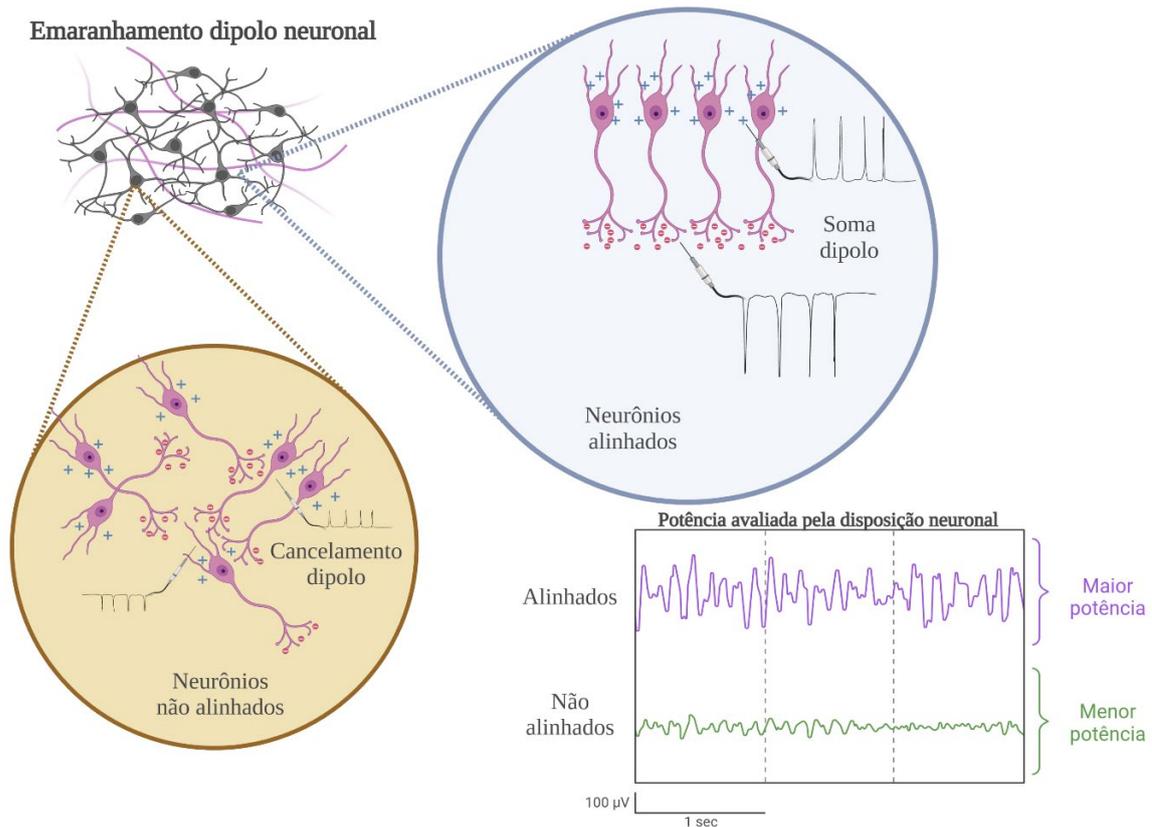


Figura 3 – Ilustração das características do potencial de membrana induzidas pela interação dipolo neuronal. Em azul é apresentada o alinhamento neuronal que favorece maior potência através da soma de estímulo e da característica dipolo, que favorece o sincronismo de informação. Em amarelo há o não-alinhamento neuronal que favorece o cancelamento dipolo e reduz a comunicação neuronal. Ambas as características modulam a aquisição de sinais da potência de campo com aumento ou da potência do potencial elétrico registrado, respectivamente. Fonte: autoria própria.

O registro da bioeletricidade celular tem acompanhado o desenvolvimento da ciência, devido a necessidade de se aprofundar o conhecimento sobre as características funcionais, que estão associadas às funções cerebrais e como o cérebro responde eletrofisiologicamente aos eventos comportamentais (HAAS, 2003). Caton (1875) foi o primeiro a realizar o primordial registro de eletroencefalograma (EEG) que relatou a atividade elétrica de ondas lentas sobre o escalpo ósseo de animais em laboratório. Esse evento, reafirmou os conceitos publicados por Galvani (1791), sobre a ocorrência da bioeletricidade em que as células tinham características excitáveis e desenvolviam respostas, como contração muscular quando os nervos foram submetidas a estímulos elétricos. Além disso, Caton (1875) estabeleceu que aquela atividade elétrica registrada poderia ter função cognitiva e funcional no cérebro animal (COENEN; ZAYACHKIVSKA, 2013).

No início do século XX, Hans Berger (1924) realizou seu primeiro registro EEG em humano. Os achados desse registro permitiram que ele definisse características elétricas em

diferentes áreas do cérebro e foi base para estabelecer o eletroencefalograma. Foi possível estabelecer tipos de ondas oscilatórias com ritmos alfa e beta, respostas diretas a estímulos e respostas comportamentais, prováveis vias de origem e propagação das correntes elétricas (BERGER, 1929; OP DE BEECK; NAKATANI, 2019). Durante o EEG, os eletrodos captam os campos elétricos produzidos da atividade iônica dos neurônios. Como o registro ocorre na porção extracelular, os eletrodos estacionados em regiões espaciais específicas do escalpo são capazes de captar sinais positivos e negativos. Essa eletropositividade ou negatividade ocorre por causa da soma das oscilações de cada célula, que caracterizam os estados de atividade em frequências maiores ou menores (OP DE BEECK; NAKATANI, 2019).

Por causa do princípio de conservação, a ocorrência positiva e negativa do fluxo das correntes deveria ser expressamente zero, mas o motivo desse fato não ocorrer está intimamente relacionado às constantes mudanças que ocorrem na base de comunicação neuronal. Cada evento registrado sofre influência de tempo, origem, do ritmo de cada região cerebral e das interações entre elas. Desse modo, as ondas são registradas em oscilação positiva e negativa (EGUÍLUZ *et al.*, 2005).

A variabilidade de resposta entre as regiões caracteriza o comportamento (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012). E esses campos elétricos registrados são de difícil compreensão quando não existe um contexto, assim é importante a padronização eletrofisiológica com base em tarefas para auxiliar a interpretação.

Os campos elétricos podem ser gravados por eletrocorticograma (ECoG), através de eletrodos colocados na superfície cerebral e por potenciais de campo profundo através de eletrodos introduzidos em regiões do encéfalo. O registro pode estar sujeito a aquisição de ruídos de fundo aos processos dinâmicos. Processos esses que podem produzir dinâmicas de: assincronia irregular, sincronia irregular e sincronia regular entre os campos e neurônios (BABILONI *et al.*, 2017; OLCAY; KARAÇALI, 2019). Essas dinâmicas cerebrais são auto organizáveis, ou seja, são produtos de interação entre atividades de cada região, além de criticamente estarem suscetíveis a estímulos externos e internos diversos. Desse modo, as interações neuronais produzem campos elétricos oscilatórios auto induzíveis ou trabalham com base na comunicação através da coerência entre regiões distintas (TINGLEY *et al.*, 2018).

O cérebro é um grande oscilador que transita entre estados síncronos e assíncronos. Com o tempo, essa estrutura poderia tender à uma sincronização e gerar processos patológicos, a exemplo: epilepsia (MANTEGAZZA, 2018). Mas, as perturbações, sejam os estímulos

externos ou regiões que se comunicam entre si, acabam por impedir a sincronização patológica (regular).

Por esse motivo, o cérebro naturalmente é um oscilador de sincronização irregular. Sendo ele, um macrossistema derivado em atividade das diversas respostas neuronais, a melhor saída para trabalhar com os eventos eletrofisiológicos foi caracterizando-os em função do tempo e da frequência (COLGIN, 2016; LESTING *et al.*, 2013). Essas interações são de difícil interpretação, por isso, a utilização de técnicas de análise que extraia padrões de frequência e organização funcional (SOLOMON, 1991; YI *et al.*, 2022) são importantes por denotar características específicas como a atividade comportamental e processos mnemônicos, dado que esses fenômenos são correlacionados entre si (HELFRICH; KNIGHT, 2019).

2.3.1 Excitação e inibição da dinâmica cerebral

O registro neuronal envolve aspectos químicos e físicos, que estão envolvidos na comunicação intrínseca dos processos de excitação e inibição promovendo respostas do organismo ao ambiente (DRAGOI; BUZSÁKI, 2006). A comunicação sináptica entre neurônios pode gerar campos elétricos que variam ao longo do tempo e produzem sinais registráveis como o mencionado potencial de campo local.

A atividade cerebral que gera oscilações e ritmos depende de vários fatores que pode promover mudanças na rede neural, conferindo propriedades que dão ritmo às oscilações lentas e rápidas (BUZSAKI, 2004). Essa capacidade de interações síncronas registrada no cérebro pode instigar respostas associadas à evocação de memória durante potenciais evocados relacionados a eventos (VAZ *et al.*, 2019). Os potenciais evocados estão relacionados a estímulos sensoriais, motores ou cognitivos, enquanto os ritmos espontâneos estão relacionados ao processo de excitação celular e são respostas sensíveis a mudanças na rede neural, podendo estar associados a respostas cognitivas específicas, sendo registrados com alta resolução tempo-espacial (HELFRICH; KNIGHT, 2019).

Os comportamentos neurais são caracterizados por bandas distribuídas pelo espectro de frequência, como a delta (1-4 Hz), teta (5-8 Hz), alfa (9-12 Hz), beta (13-35 Hz), gama (36-300 Hz) e as oscilações de alta frequência, conhecidas como *sharp-waves* e *ripples* (aproximadamente 300 Hz ou mais) (BUZSÁKI, 1986; TIMO-IARIA; PEREIRA, 1971). Esse padrão de atividade é comum em humanos e animais durante suas fases comportamentais. O padrão de frequência teta tem sido extensamente estudado em mamíferos, uma vez que está presente tanto em estados de alta atividade comportamental quanto em períodos de imobilidade

ou sono (KNYAZEV, 2007; SENZAI; BUZSÁKI, 2017; TORTELLA-FELIU *et al.*, 2014). A distribuição das bandas de frequências tem diferentes significados em suas distintas regiões de surgimento (MEYER *et al.*, 2015). A diversidade de fases e oscilações caracterizam também a diversidade comportamentos em resposta ou não a estímulos. Essa variabilidade é o que mantém o aspecto de sincronia irregular do macrossistema cerebral (EGUÍLUZ *et al.*, 2005).

Recentemente, foi demonstrada a influência da banda delta (1 a 4 Hz) em processos motores, de memória espacial e na função cognitiva de mamíferos (FURTUNATO *et al.*, 2020). Em répteis, ainda há poucos estudos sobre o perfil dominante da atividade elétrica do cérebro desses animais, mas sabe-se que a atividade de frequência delta é mais expressa do que as outras (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991; NORIMOTO *et al.*, 2020). Além disso, quando há aumento da potência de atividade de frequências teta e gama ocorre redução da potência de bandas delta associado à ocorrência de atividade mnemônica (SANTOS, 2021).

A frequência e a duração de disparos têm sido avaliada como características preservadas da comunicação sináptica (BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013). As frequências delta ou teta podem estar sincronizadas com oscilações de frequência mais rápida, como a gama, e desempenham atividades relacionadas a comportamentos específicos ou processos de consolidação da memória (ÇALIŞKAN; STORK, 2018). No hipocampo, a ocorrência de oscilações teta, codifica preferencialmente a localização espacial e tende a agrupar as informações no cérebro de mamíferos (AMEMIYA; REDISH, 2018).

A sincronização natural de atividade neuronal, como a sincronia irregular, é frequentemente observada no hipocampo (LÉVESQUE *et al.*, 2018). Essa coerência de atividade entre núcleos de neurônios é avaliada para compreender como está a comunicação entre eles (NUNEZ; SILBERSTEIN, 2000). A teoria da comunicação através da coerência sugere que grupos de neurônios apresentam dependência funcional para a executar funções específicas (COLGIN, 2011; GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Parte da sincronia depende da atividade elétrica do cérebro, que está relacionada com a atividade de canais iônicos, como os canais para sódio, potássio e cálcio. Esses que desempenham papel fundamental na geração e propagação dos potenciais de ação produzem a atividade elétrica global do cérebro (BEAN, 2007). Em mamíferos as características biofísicas dos neurônios foram avaliadas a nível de potencial de repouso a -70 a -60 mV, capacitância típica em 0,5 a 2 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ e corrente iônica de 250 a 500 pA (MALIK *et al.*, 2016). Estudos recentes têm demonstrado a importância de canais iônicos específicos no aumento da excitabilidade da atividade elétrica do cérebro e em processos cognitivos, como a consolidação da memória em mamíferos (DEBANNE; INGLEBERT;

RUSSIER, 2019; KADIR; STACEY; BARRETT-JOLLEY, 2018; SILVA *et al.*, 2021). Além disso, a atividade elétrica do cérebro pode ser aumentada ou diminuída por fatores ambientais, como luz e temperatura e por processos inflamatórios (ZOVKIC; GUZMAN-KARLSSON; SWEATT, 2013).

Em estudos realizados em répteis, como tartarugas (*Sternotherus odoratus*) e espécies do gênero *Liolaemus* (*L. bellii* e *L. nigroviridis*), foi observado que o pico das correntes iônicas atinge cerca de 4 a 180 pA. Além disso, foram identificadas características específicas do potencial de membrana, variando entre -59 e -54 mV, e uma capacitância de 4,2 pF. Também foi observado que a condutância ao sódio é cerca de duas a três vezes maior do que a condutância ao potássio. Além disso, a corrente de potássio apresenta duas fases de ação, uma curta (transiente) e outra mais prolongada (retardada) (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001; LABRA; BRANN; FADOOL, 2005).

Independente do grupo de animais, alterações que atingem o fluxo iônico e geração de potenciais de ação, tende a atingir funções cognitivas, emocionais, visto que isso pode estar relacionado a alterações na percepção sensorial e nos processos de memória. A região do hipocampo é uma das mais importantes para promoção dos processos de memória (SQUIRE; STARK; CLARK, 2004). A posição privilegiada do hipocampo permite a integração de vastas regiões do córtex associativo, primário e associação espaço-tempo (VAZ *et al.*, 2019). A comunicação entre regiões cerebrais separadas se torna facilitada quando trabalham em conjunto e oscilam em sintonia. Isso aumenta a probabilidade do sinal recebido envolver redes neuronais locais no processamento, pois os potenciais de ação podem chegar durante um período de maior excitabilidade neuronal e garantir uma melhor resposta comportamental (GELINAS, 2019; SINGER, 2018).

Estudos têm demonstrado que quanto maior a fosforilação de canais iônicos específicos, como os canais de cálcio tipo L (LTCCs) ocorre aumento da excitabilidade, entretanto com canais de potássio dependentes de voltagem (Kv) ocorre diminuição da excitabilidade do hipocampo (DJEHARI *et al.*, 2021; INGLEBERT; DEBANNE, 2021). A atividade elétrica do hipocampo pode ser modulada por esses canais iônicos e por outros fatores, como a atividade sináptica atividade de genes imediatos à ativação de neurônios e de genes tardios associados à fosforilação de canais e brotamento dendrítico (PU *et al.*, 2018). Todos esses fatores contribuem para o progresso da formação e consolidação de fenômenos mnemônicos.

Durante a formação de memória, por exemplo, as ondulações de alta frequência são capazes de aumentar a atividade neuronal durante a transmissão da informação nas redes de

memórias (BUZSÁKI *et al.*, 1992). Quando avaliado a nível de canal LTCCs que têm papel importante na formação e consolidação da memória (DEBANNE; INGLEBERT; RUSSIER, 2019). Durante a consolidação da memória, as oscilações na banda de ondas intermediárias (10 a 25 Hz) podem agir como gatilho à sincronização no cérebro, que induz aumentos robustos na excitabilidade e reforça a rede neuronal local e vizinha (BUZSAKI, 2004).

2.3.2 Canais iônicos como resistores da atividade neuronal

Os canais iônicos são estruturas proteicas transmembranares que conectam o meio intracelular e extracelular. Em sua composição, os canais possuem diferentes morfologias que se diferenciam em ativação, no entanto os mais comuns são os dependentes de voltagem e os dependentes de ligante (RAMA; ZBILI; DEBANNE, 2018). Como os canais regulam o fluxo dos íons, eles são considerados resistores de corrente iônica, esse controle se dá pela mudança conformacional das proteínas que podem permitir a passagem ou interrupção do fluxo. O canal dependente de ligante é um dos que contribui para a comunicação sináptica nos neurônios, visto que a propagação da informação é dependente da ocorrência do potencial de ação no neurônio. O potencial de ação depende dos estímulos de receptores dependentes de ligantes, porque é a sensibilização do soma neuronal que provoca o estímulo desencadeador do potencial de ação. (RAGHAVAN; FEE; BARKHAUS, 2019).

O ato de excitar ou inibir a atividade dos neurônios é modulada respectivamente pelos receptores glutamatérgico e Gabaérgico (RAGHAVAN; FEE; BARKHAUS, 2019). Esses receptores desempenham papel importantíssimo na função cognitiva e participam de eventos mnemônicos como a potenciação de longa duração e a depressão de longa duração (NABAVI *et al.*, 2014).

Para os canais glutamatérgicos, o fluxo de íons catiônicos se dá através do sódio e cálcio. O influxo de sódio (por canais AMPA) altera o potencial de membrana do corpo celular e libera a obstrução causada pelo magnésio no poro do receptor NMDA, dessa forma, a condutância ao cálcio é liberada. Em sequência, o influxo de cálcio gera ativação enzimática e de precursores de fosforilação que induz efeitos genômicos como o aumento da produção de novos receptores, como também impedindo a dessensibilização do neurônio. Essa resposta sináptica induz o desenvolvimento de vias de arborização dendrítica, consolidação dos traços de memória, aumento da excitabilidade neuronal, que ocorre principalmente na região hipocampal (JENSEN; LISMAN, 2005). Desse modo, esses eventos vinculados à potenciação de longa duração contribuem para a formação de memória (IZQUIERDO; MEDINA, 1997).

Por outro lado, o canal gabaérgico pode inibir o processo de potenciação de longa duração. Enquanto os íons sódio e cálcio contribuem para a sensibilização e despolarizam, o que facilita eventos de potenciação, o íon cloreto tem função dessensibilizante e hiperpolariza o neurônio (NABAVI *et al.*, 2014). O efeito da ação hiperpolarizante pode resultar no efeito contrário e induzir a retração dendrítica e axonal, redução da excitabilidade, e ter resultados diferentes na formação da memória. Quando existe uma rede vasta e há densidade sináptica na constituição do traço de memória, a depressão de longa duração pode ser benéfica porque vai contribuir com a fixação do traço e eliminar os excessos. No entanto, quando a depressão antecede o estabelecimento da rede de memória, ocorre o prejuízo na formação e na resposta cognitiva do indivíduo (HUANG *et al.*, 2007).

No contexto do presente trabalho foi focada a importância da sinalização gabaérgica, porque para bloquearmos os processos de aquisição, consolidação e evocação, utilizaremos de um agonista gabaérgico, o muscimol. O muscimol é um composto psicoativo de cogumelo da espécie *Amanita muscaria* e provoca o efeito depressor, por sua característica inibitória no sistema nervoso central (JOHNSTON, 2014). Além disso, esse composto é utilizado na investigação direta em modelos de avaliação de memória e sobre aspectos eletrofisiológicos na atividade cerebral (DEFEUDIS, 1980; LAI *et al.*, 2015).

Os canais Gabaérgicos são canais iônicos que permitem o fluxo de íons cloreto para dentro de um neurônio em resposta à ligação de moléculas neurotransmissoras de GABA. Esse influxo de íons cloreto com carga negativa torna mais difícil para o neurônio gerar um potencial de ação e pode ser entendida como uma inibição da atividade ou filtro seletivo das informações do neurônio (BEAN, 2007). A inibição dos neurônios Gabaérgicos pode desempenhar um papel importante na formação e recuperação da memória. O GABA é o principal neurotransmissor da via de sinalização inibitória no cérebro e sua liberação pode suprimir a atividade de outros neurônios (IZQUIERDO; MEDINA, 1997). O sistema Gabaérgico está envolvido na regulação do equilíbrio entre a atividade excitatória e inibitória em circuitos neurais, o que é essencial para a função cerebral normal (MARTIN; GRIMWOOD; MORRIS, 2000).

Agentes farmacológicos que bloqueiam ou induzem a transmissão GABAérgica no hipocampo alteram o comportamento tipo ansioso e modula a retenção da memória em roedores (ZARRABIAN *et al.*, 2017). Além disso, técnicas optogenéticas que permitem a manipulação precisa dos neurônios Gabaérgicos demonstraram que a inibição seletiva desses neurônios em núcleos envolvidos com ansiedade e medo pode reduzir o processo de formação da memória aversiva (GIACHERO; CALFA; MOLINA, 2015).

A relação entre a excitar e inibir vias GABAérgica e a memória é complexa e depende do contexto específico e das demandas da tarefa. Além disso, os efeitos modulatórios da via GABAérgica podem variar dependendo do momento da inibição ou excitação em relação à tarefa de memória (JACOB; MOSS; JURD, 2008). Evidências sugerem que a inibição GABAérgica, em núcleos responsáveis pela atividade mnemônica desempenha prejuízos na formação e recuperação da memória (MARTIN; GRIMWOOD; MORRIS, 2000). Já, quando são vias indiretas da atividade mnemônica a excitação pode aprimorar etapas da formação, entretanto, quando ocorre inibição pode prejudicar as mesmas etapas mnemônicas (ZARRABIAN *et al.*, 2017). Assim, pontuamos que modular a atividade dos neurônios Gabaérgicos é dependente do núcleo e de diferentes estágios do processamento de memória, como a aquisição, consolidação e evocação (DEFEUDIS, 1980; ROOZENDAAL; MCEWEN; CHATTARJI, 2009)

Durante a aquisição, informações sensoriais são transformadas em uma representação neural que pode acionar a memória operacional e induzir a formação de memória de curto ou longo prazo (ZOVKIC; GUZMAN-KARLSSON; SWEATT, 2013). Durante esse processo, inibir vias de inibição pode resultar em prejuízos cognitivos e comportamentais, já foi mostrado que a inibição de vias GABAérgicas do córtex visual em etapas de formação da memória prejudica a capacidade associativa da memorização (SHEN *et al.*, 2011).

A consolidação da memória envolve o processo de estabilizar as memórias recém-formadas e integrá-las às redes de conhecimento existentes. A inibição dos neurônios Gabaérgicos durante a consolidação também pode melhorar o desempenho da memória. A ação dos neurônios Gabaérgicos na amígdala é capaz de filtrar as sinapses diretas do hipocampo e córtex pré-frontal e magnificar a retenção das informações associadas a contextos emocionais (LIKHTIK; JOHANSEN, 2019).

Durante a evocação, a inibição dos neurônios Gabaérgicos também pode influenciar os processos de recuperação. Por exemplo, estudos mostraram que a inibição dos neurônios Gabaérgicos no córtex pré-frontal, uma região cerebral envolvida na memória de trabalho e na função executiva, pode melhorar a recuperação da memória em uma tarefa de memória espacial (JACOB; MOSS; JURD, 2008).

No entanto, grande parte das investigações sobre os efeitos da modulação gabaérgica é realizada em mamíferos e pouco se sabe da influência desses neurônios sobre aspectos cognitivos e comportamentais dos répteis. Contudo, foi declarado recentemente que nos répteis as espécies *Trachemys scripta elegans* e *Pogona vitticeps* possuem uma vasta variedade de

neurônios gabaérgico e um pouco menos expressivo os tipos de neurônios glutamatérgico (TOSCHES *et al.*, 2018), e esses dados reforçam a ideia de que a grande quantidade de neurônios glutamatérgicos nos mamíferos foram derivados de um folheto embrionário diferente do observado de seus ancestrais amniotas.

Em resumo, os receptores Gabaérgicos desempenham um papel crucial na rede de interpretação e filtro informacional, que é um mecanismo essencial para regular a atividade neural no cérebro.

2.3.3 A dinâmica oscilatória

A maioria das oscilações cerebrais têm origem modulada, pois a ocorrência das oscilações é resultante da interação entre potenciais excitatórios e inibitórios pós-sinápticos. É da inibição que se varia e transporta as informações excitatórias em carga (BUZSÁKI, 2010). Quando o processo de comunicação entra em sincronização, pode-se registrar sincronização de fase que é um mecanismo que responde a períodos de plasticidade neuronal e está atrelado aos processos cognitivos no organismo (VALENCIA; FROESE, 2020). Para avaliar essa interação é utilizada a análise, que através da fase de oscilação da frequência, avalia o índice de modulação dessa com amplitudes de frequências maiores. Essa ferramenta é denominada acoplamento de frequência cruzada e calcula o índice de modulação (TORT *et al.*, 2010). No hipocampo de mamíferos, foi onde se realizou a compreensão das possíveis interações entre as fases de oscilações teta com amplitudes de ondas gama (TORT *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2018).

Acoplamento de frequência pode ser diferenciado em acoplamento de fase e acoplamento de amplitude. O acoplamento de fase é compreendido como um sincronismo entre respostas neuronais funcionais e não funcionais que interagem e se distribuem em osciladores neuronais. O cruzamento de fase reflete a identidade característica de certas frequências entre interações neuronais (SIEGEL; DONNER; ENGEL, 2012; SIEMS; SIEGEL, 2020). A função do acoplamento de fase reflete funções cognitivas como memória (WANG; MORRIS, 2010; FELL; AXMACHER, 2011) e atribuição de tarefas contexto dependente (MARZETTI *et al.*, 2019). O acoplamento fase-fase é sensível tanto à força quanto à consistência do relacionamento de fase entre os dois sinais. Assim a avaliação de acoplamento pode ser realizada na interação fase-amplitude (MUNIA; AVIYENTE, 2019; TORT *et al.*, 2009), em que a fase de disparo de frequências baixas interfere ao modular a amplitude de frequências maiores, ou no acoplamento

fase-fase de interação entre bandas de frequências diferentes (BELLUSCIO *et al.*, 2012). O acoplamento de frequência cruzada pode remeter à evidência de formação de memória porque está atrelado a processos sinápticos conhecidos como potenciação de longa duração e depressão de longa duração que são componentes chaves para modulação da formação da memória, organização e depreciação mnemônica (BABILONI *et al.*, 2009).

O acoplamento de amplitude ou acoplamento de fase-amplitude busca compreender como a interação entre processos sinápticos podem interferir numa rede. O processo de acoplamento fase-amplitude pode ser ajustado aos achados de análises de perfil discreto de amplitude e frequência na modulação da banda gama por fases de frequências mais lentas (HÜLSEMANN; NAUMANN; RASCH, 2019; WEAVER *et al.*, 2016). O processo de acoplamento de amplitude permite avaliar interações neurais de função cognitiva com funções distintas (SIEGEL; DONNER; ENGEL, 2012).

A interação do resultado do acoplamento fase-amplitude é interpretada como a força de acoplamento capaz de aumentar a resposta da amplitude de frequências maiores, por oscilações mais lentas (BELLUSCIO *et al.*, 2012). O acoplamento de fase-amplitude está associado à memória de trabalho, eventos que foram consolidados, ou na ocorrência de interação teta-gama (VALENCIA; FROESE, 2020). Em mamíferos, o acoplamento de frequência ocorre principalmente na região dos neurônios granulares em cesto, células de localização (do inglês *place cells*), no hipocampo (BONNEFOND; JENSEN, 2015). A interação ocorre entre os picos amplitude na comunicação em fluxo dos neurônios ao acoplamento de frequência cruzada. Isso pode evidenciar a transferência de informações e plasticidade dependente de tempo. Os achados sobre acoplamento de frequência cruzada, fase-amplitude, podem ajudar na compreensão dos processos de consolidação e ou evocação de memórias (FELL; AXMACHER, 2011).

Em répteis, a prevalência das oscilações em frequência é predominante para frequências baixas, 1 – 4 Hz, com diminuição de amplitude para frequências maiores (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991) essa característica pode indicar um aspecto importante da organização funcional dos neurônios reptilianos, que é a formação de memória. A descrição de características oscilatórias tem destaque para tartarugas e lagartos: *Pseudemys scripta elegans* (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991; TROYER; BLANTON; KRIEGSTEIN, 1992), *Gecko gekko* (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991), *Pogona vitticeps* (NORIMOTO *et al.*, 2020; SHEIN-IDELSON *et al.*, 2016), *Iguana iguana* (AYALA-GUERRERO; MEXICANO, 2008) e *Tropidurus hispidus* (SANTOS *et al.*, 2023).

2.4 *Tropidurus hispidus* como modelo animal

O *T. hispidus*, ordem *Squamata*, família *Sauria*, gênero *Tropidurus* tem habitats diversificados, que se adapta bem a vários biomas, desde a mata atlântica à caatinga. Presente em grande quantidade no nordeste brasileiro, o lagarto passou por adaptações que os permitiram conquistar, com sucesso, ambientes urbanos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2018; DE ANDRADE, 2019). O lagarto *T. hispidus* (calango) obteve sucesso no ambiente artificial (DE ANDRADE, 2019), dado o potencial de moradia (paredes com falhas, locais com espaços adaptados para acomodação) e predação alimentar por causa do acúmulo de insetos nos ambientes favoráveis ao seu desenvolvimento (PARRIS, 2016). Assim, as habilidades necessárias à sobrevivência fizeram-se melhoradas para essa adaptação, tais como possivelmente a manutenção da memória baseada na aprendizagem associativa ao novo ambiente (CALLAGHAN *et al.*, 2019).

O modo como o lagarto responde a estímulos, sejam eles aversivos como pássaros, gatos e cães domésticos (KAPFER, 2010) ou atrativos, como besouros pequenos, formigas e larvas de insetos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2018) depende de suas experiências anteriores (MCGAUGH, 2000).

O *T. hispidus* é um animal com comportamento típico de senta-e-espera. Ele exibe preferência competitiva ao domínio do microambiente e sucesso no habitat, com habilidades sobre recursos e sobre os predadores (JOHNSON; MUNSHI-SOUTH, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2019; SHOCHAT *et al.*, 2010). No ambiente antropizado, essa espécie desenvolve táticas de sobrevivência que são especializadas ao espaço (DE ANDRADE, 2019). Esse aspecto da especialização pode remeter à aprendizagem e uso de memórias retrógradas (BATBYAL; THAKER, 2019), como por exemplo, recordar de um dos seus principais predadores (DE ANDRADE, 2019). Sua organização ao ambiente reforça que o animal, possa ter aprimorado habilidade de aprendizagem, principalmente associativa, por exemplo em cores de alimentos, configuração visual dos predadores, locais de refúgio que devem ser lábeis ao potencial aversivo e comparado com a experiência (SHETTLEWORTH, 2010).

Nesse contexto, nosso grupo de pesquisa, representado por pesquisadores dos laboratórios de Neurobiologia Comportamental e Evolutiva (LaNCE) e Neurofisiologia (LNFS), da Universidade Federal de Sergipe, vem desde 2003 trabalhando com o *T. hispidus*. O grupo estudou processos relacionados à neurogênese (MARCHIORO *et al.*, 2005), processos de distribuição e caracterização anatômica (DE CARVALHO PIMENTEL *et al.*, 2011) e processos relacionados à formação hipocampal (MACEDO-LIMA *et al.*, 2017). Estudos que

buscaram avaliar mecanismos sobre memória através de estímulos aversivos condicionados e provas de labirinto, têm encontrado importantes resultados. Eles denotam a formação de memória aversiva no *T. hispidus*, através da avaliação comportamental, expressão de marcadores de ativação neuronal, de estresse neuronal em núcleos do córtex do telencéfalo desses animais, bem como reatividade a expressão de enzimas associadas a oxidação e expressão de óxido-nítrico que tem respostas positivas no provável aumento na liberação de neurotransmissores nas fendas sinápticas neuronais que reforçam a capacidade associativa e provável formação da memória (SANTOS, 2016; MEDEIROS, 2019).

O citado grupo de pesquisa trabalhou inicialmente com o modelo de formação de memória aversiva no *T. hispidus*. A abordagem foi investigada por exposição dos animais a um gato doméstico (*Felis catus*) como estímulo aversivo. Santos (2016) avaliou a expressão de ZIF-268 no contexto de formação de memória aversiva e observou aumento da expressão dessa proteína na região do telencéfalo e na amígdala. Macedo-Lima et al. (2017) apresentaram a ocorrência de neurônios NADPH+ no CM com aumento da neurogênese e proliferação na região CM. Santos (2018) investigou a participação do CD nos processos de memória e constatou que inibir seu núcleo provoca prejuízos nos processos mnemônicos. Medeiros (2019) observou que tarefas aversivas aumentam a expressão de NADPH e óxido nítrico em neurônios nitrérgicos nas regiões do telencéfalo durante tarefas aversivas. Pimentel et al. (2021) sugere que há migração de neurônios com formação de novas vias sinápticas no córtex telencéfalo. Santos (2023) padronizou variáveis eletrofisiológicas no cérebro do *Tropidurus hispidus* e investigou sobre mudanças de atividade no CD em resposta a estímulo e formação de memória, e foi observado que no CD ocorre aumento de atividade de frequências gama na tarefa mnemônica. Estudos preveem que a atividade eletrofisiológica cortical dos répteis se desenvolve com atividade de baixa frequências com predominâncias entre 1-5 Hz, comparadas a atividade em vigília de mamíferos e aves que se desenvolvem de 4-15 Hz com eficiência cognitiva e eletrofisiológica, mantendo suas funções fisiológicas (BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013; EGUÍLUZ et al., 2005; GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991; KNYAZEVA, 2012). Nossas pesquisas na área da eletrofisiologia corroboram as previsões e observamos modulações nessas bandas de frequência no córtex dorsal acerca da funcionalidade durante tarefas comportamentais.

Afim de se compreender como interagem os núcleos do hipocampo reptiliano do *T. hispidus* sobre tarefa aversiva e como é o padrão de atividade unitária dos neurônios piramidais do hipocampo reptiliano. O presente trabalho visa investigar a caracterização eletrofisiológica

do perfil da atividade do CDM e CL através potencial de campo local registrado em síncrono do lagarto *T. hispidus* durante uma exposição aversiva. Além disso, caracterizar a atividade do neurônio piramidal unitário que está presente no CDM. O CL é uma região que tem uma interação dependente das vias visuais e projeta para o CDM informações aos neurônios piramidais (extremamente presentes no núcleo) que integram uma ampla rede aferente do hipocampo reptiliano (Figura 4).

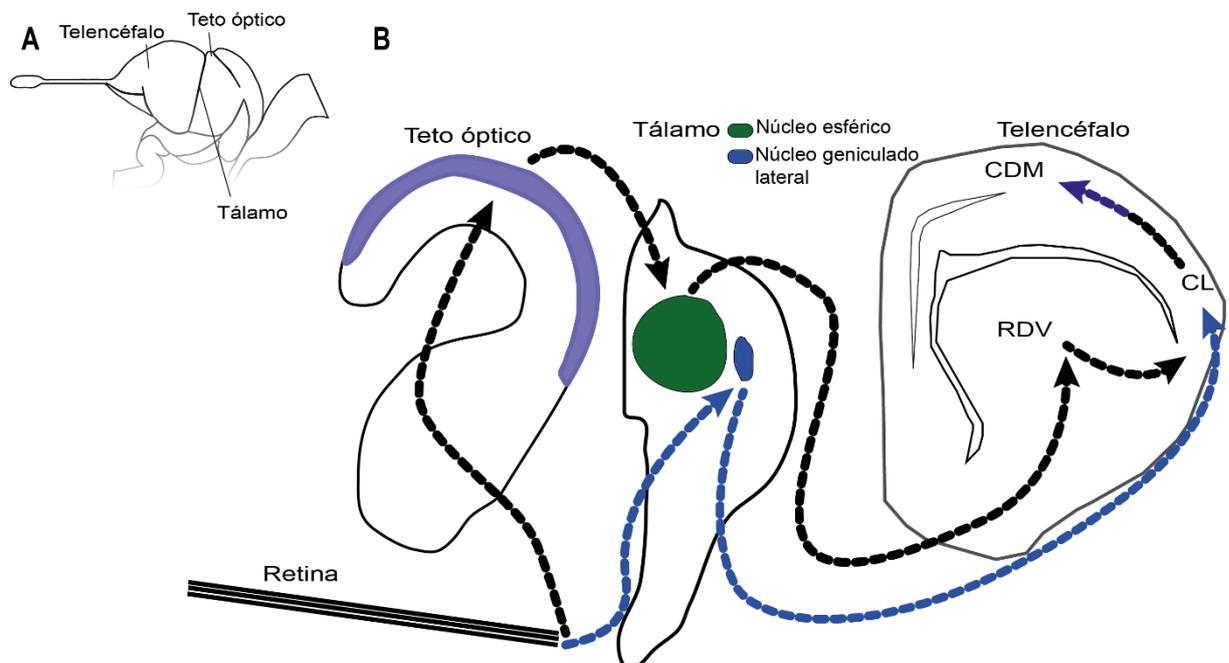


Figura 4 – Vias sensoriais visuais no cérebro do *Tropidurus hispidus* que envolvem a participação do córtex lateral. Em A visão lateral do cérebro do *Tropidurus hispidus* e indicação do segmento das áreas: telencéfalo, tálamo e teto óptico. Em B Da retina são projetadas duas vias de distribuição visual. Em preto as setas indicam a projeção visual que é regulada e processada pelo teto óptico-tálamo-região dorso-ventricular-córtex lateral. Em azul claro está a projeção visual que é inicialmente processada tálamo no núcleo geniculado lateral que projeta diretamente ao córtex lateral. Em azul e preto a comunicação integrada do córtex lateral ao dorsomedial. Região dorso-ventricular (RDV), córtex dorsomedial (CDM) e córtex lateral (CL)Fonte: autoria própria.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral:

Avaliar a integração dos córtices dorsomedial e lateral do lagarto *Tropidurus hispidus* durante os processos de memória aversiva e caracterizar a atividade elétrica de neurônios piramidais do córtex dorsomedial.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a participação do córtex dorsomedial na aquisição de uma memória aversiva;
- Avaliar a participação do córtex lateral na aquisição de uma memória aversiva;
- Compreender a interação eletrofisiológica entre regiões distintas (CDM-CL) do telencéfalo reptiliano em tarefa de memória aversiva;
- Verificar o efeito da ativação de canais GABA na modulação eletrofisiológica e da interação entre os núcleos CDM-CL;
- Analisar o congelamento como comportamento.
- Analisar características eletrofisiológicas de neurônios piramidais do córtex dorsomedial.

4 MÉTODOS

4.1 Declaração ética

O presente estudo possui aprovação das organizações nacionais de meio ambiente (ICMBio/SISBio) para captura, manutenção e utilização do lagarto *T. hispidus* para fins científicos (SISBio n. 58575). O estudo também possui protocolo no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen A5C92D9). Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Animais (CEPA), sob número de protocolo 2285290621 (**APÊNDICE 1**), em acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca), do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2 Animais para experimento

Foram utilizados 35 lagartos da espécie tropicais *Tropidurus hispidus*, machos, de idade adulta ~1 ano (ALBUQUERQUE *et al.*, 2018) e foram capturados na proximidade das coordenadas: latitude (-10.609307°) e longitude (-37.355263°), datado pelo aparelho WGS-84, Malhador, Sergipe, Brasil. Para serem incluídos nos experimentos, os lagartos deveriam apresentar comprimento rostro-cloacal entre 9 e 13 cm, com massa variante entre 40 e 60 gramas.

Foi utilizado um gato da espécie *Felis silvestris catus*, adulto, como contexto aversivo. Vale ressaltar que durante todas as etapas foi utilizado o mesmo gato, que não foi submetido a nenhum tratamento de tosa, banho ou uso de odorizantes, pelo menos nos três meses que antecederam os experimentos.

4.3 Acomodação e criação

Os animais foram mantidos em terrários (0,8 x 0,6 x 0,5 m de dimensões), com lotação de no máximo 5 animais por terrário, construído de forma a assemelhar-se ao seu habitat natural. O ambiente foi enriquecido com pedras, lâmpadas de calor (100W), assoalho composto por uma camada de 5 cm de areia lavada e peneirada, onde os animais poderiam recolher-se durante a noite. Os animais foram alimentados com larva de *Tenébrio molitor* diariamente, hidratados com água potável e mantidos em ciclo de claro/escuro de 12/12 horas (lâmpadas

sendo acesas as 6 h). Antes do início do experimento, os animais passaram por 5 dias de ambientação no laboratório. A finalidade deste procedimento foi habituá-los ao novo ambiente, para reduzir possíveis estresses e ao experimentador que conduziria os testes.

4.4 Drogas

No presente estudo foi utilizado o muscimol, composto isolado do cogumelo gênero *Amanita* (Sigma, EUA), para avaliar o efeito farmacológico sobre os testes comportamentais (JOHNSTON, 2014). Além disso, os lagartos foram anestesiados com o cloridrato de cetamina (Ketamina[®], Agener União), cloridrato de xilazina (Xylazin[®], Agener União) e realizada a assepsia das escamas com água oxigenada (ADV Farma). Por fim, foi utilizado para perfusão o tiopental sódico (Cristália).

4.5 Delineamento experimental

O presente estudo foi dividido em dois experimentos, como apresentados a seguir:

Experimento I: avaliação da integração cortical em tarefa de memória aversiva

Para investigar acerca da integração entre os núcleos do córtex lateral e dorsomedial sobre o contexto da memória aversiva, nós realizamos o seguinte experimento e coletamos 10 animais para cada um dos processos de memória: aquisição, consolidação e evocação, num total de 30 animais.

Nesse experimento, os lagartos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implante de eletrodos e cânulas. Os animais foram divididos em dois grupos (CTL e MUS) e submetidos a um protocolo de memória aversiva, com duração de dois dias seguidos (dia 1 – treino (TR) e dia 2 – teste (TT)).

No primeiro dia, dia de treino, os animais de ambos os grupos foram colocados, individualmente, em uma caixa de experimentação (0,8 x 0,6 x 0,5 m) onde permaneceram por 5 min, condição denominada de ambientação (AMB). Depois desse período o animal foi exposto, por 5 min, a uma gaiola contendo um gato, condição denominada de exposição (EXP). Após esses procedimentos, os animais foram devolvidos para o terrário de alojamento.

No segundo dia, 24 h após o treino, os animais foram novamente posicionados na caixa de experimentação, permaneceram por 5 min e, após, esse período, foram expostos por 5 min a

uma gaiola vazia. Após esses procedimentos, os animais foram novamente devolvidos para o terrário de alojamento.

O protocolo citado acima foi realizado três vezes utilizando animais diferentes. O objetivo da repetição foi avaliar cada um dos processos de memória aquisição, consolidação e evocação. Deste modo para podermos diferenciar os processos e grupos, nas análises comportamentais e de padronização em função da frequência, declaramos complementos à nomeação dos grupos CTL e MUS, respectivo a cada processo de memória _AQ, _CON e _EVO.

Vale ressaltar que, 3h antes das atividades experimentais de treino e teste, os animais foram retirados do terrário de acomodação e foram isolados em caixas individuais (0,2 x 0,1 x 0,12 m).

No protocolo de **aquisição**, 15 min antes do início da fase de treino, os animais do grupo MUS_AQ (n = 5), ainda na caixa de isolamento, foram infundidos com muscimol. Foi utilizado um volume de 0,2 µl de muscimol (concentração de 0,25 µg/µl). Para o grupo CTL_AQ (n=5) foi realizada infusão de salina 0,9% com o mesmo volume, Figura 5.

No protocolo de **consolidação**, imediatamente após a fase de exposição, os animais foram reconduzidos até a caixa de isolamento, onde foram infundidos com muscimol (grupo MUS_CON, n = 5) ou salina (grupo CTL_CON, n = 5), Figura 5.

No protocolo de **evocação**, 15 min antes do início da fase de teste os animais foram infundidos com muscimol (grupo MUS_EVO, n = 5) ou salina (grupo CTL_EVO, n = 5), Figura 5.

No início das sessões de treino e teste os animais das três fases experimentais foram acoplados a um sistema de registro eletrofisiológico, através do implante em seu crânio. Durante todo o experimento comportamental, os animais foram gravados por uma câmera de vídeo. Após todos os experimentos, os animais tiveram os cérebros coletados e analisados para verificar a posição das cânulas e dos eletrodos.

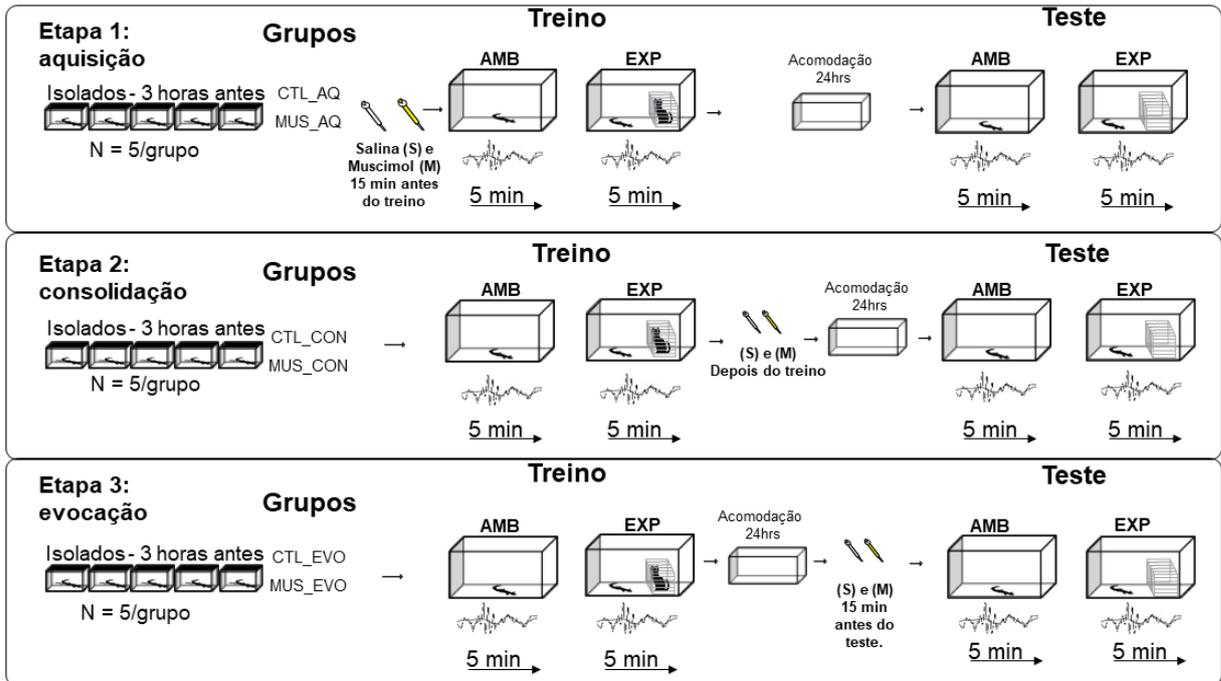


Figura 5 – Delineamento experimental. Etapa 1: linha do tempo do processo de aquisição, com grupos CTL_AQ e MUS_AQ. Etapa 2: linha do tempo do processo de consolidação, com grupos CTL_CON e MUS_CON. Etapa 3: linha do tempo do processo de evocação, com os grupos CTL_EVO e MUS_EVO. Em cada etapa, os animais foram isolados 3 horas antes da tarefa que ocorreu no treino e teste, sob condições de ambientação (AMB) e exposição (EXP). Os animais foram infundidos com salina (S) ou muscimol (M). Todos os eventos ocorreram através do registro eletrofisiológico de 10 minutos divididos entre as condições.

4.5.1 Cirurgia estereotáxica

Foram utilizados eletrodos não oxidáveis, revestidos com plástico e teflonados com esmalte para limitar captação dos arredores. Os eletrodos possuem dimensão de contato de 0,42 mm e foram reduzidos com broca cirúrgica para 0,2 mm, o comprimento da base para o ápice de contato do eletrodo tem dimensão de 2 mm e foram reduzidos a 1 mm para contato com córtex lateral e 0,5 mm para contato com córtex dorsomedial.

As cânulas para intervenção farmacológica foram confeccionadas a partir de seringas hipodérmicas de calibre de 0,3 mm.

Os animais do experimento foram anestesiados com cetamina (20 mg/kg) e xilazina (2 mg/kg) por via intraperitoneal. Com a certificação do animal completamente anestesiado, o crânio passou por assepsia, foram retiradas as escamas para visualização da glândula pineal e o local foi desinfetado com água oxigenada (10 volumes) e fixado no aparelho estereotáxico (Insight, Brasil). O animal foi submetido a cirurgia de implante eletrodos e cânulas, seguindo as coordenadas adotado referencial inicial a glândula pineal como descrito por Smeets,

Hoogland e Lohman.(1986) (Figura 6) (MEDEIROS, 2019; PIMENTEL *et al.*, 2011; SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986) e padronizado por trabalhos anteriores desenvolvidos no laboratório (MEDEIROS, 2019; SANTOS, 2018, 2021). Foram realizados sete orifícios no crânio do animal, onde dois eletrodos, um em cada hemisfério, foram aproximados no córtex dorsomedial: AP:3,0 mm; ML: $\pm 1,5$ mm; DV: 0,5 mm (todos os grupos) e dois eletrodos, um em cada hemisfério, no córtex lateral: AP:1,5 mm; ML: $\pm 3,0$ mm; DV: 1,0 mm (todos os grupos), Figura 7-A; duas cânulas, uma em cada hemisfério, para intervenção farmacológica no córtex lateral: AP:1,5 mm; ML: $\pm 1,5$ mm; DV: 2,2 mm e ângulo de 60° (todos os grupos), Figura 7- C, D e E; parafuso para aterramento AP:+0,5 mm; ML: $\pm 3,0$ mm; DV: 0,5 mm (todos os grupos); Figura 7-E. Para fixação foi feito um capacete de acrílico através da mistura da resina acrílica autopolimerizável Jet líquido-clássico, ver Figura 8 para visualizar a disposição dos eletrodos e cânulas. Após uma semana em recuperação, os animais foram submetidos ao protocolo experimental.

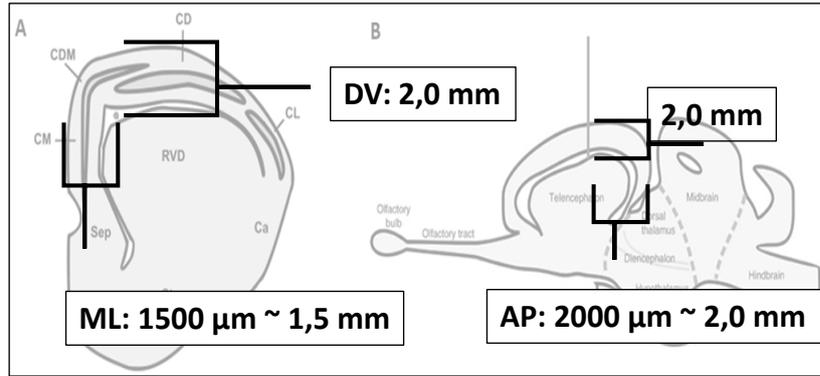


Figura 6 – Padrão de referência anatômica do *Tropidurus hispidu*. Em A e B estão referenciados os padrões de dimensionamento referência espacial para seleção de regiões específicas. Adaptado (MEDEIROS, 2019).

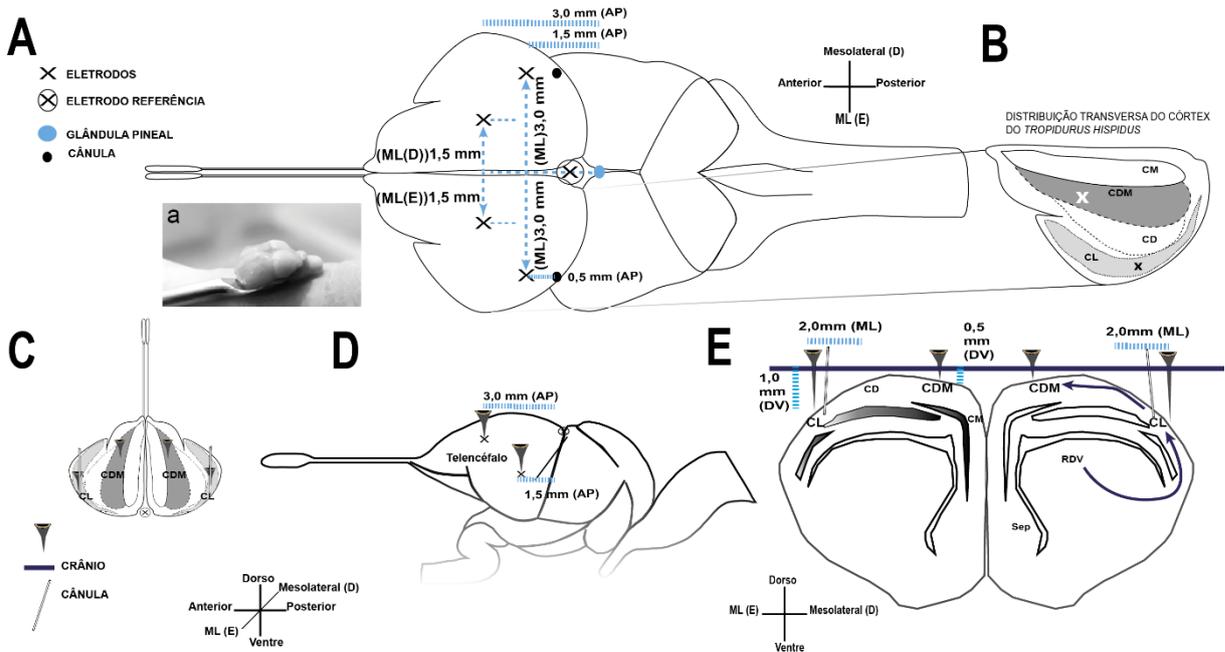


Figura 7 – Ilustração esquemática da distribuição dos eletrodos no telencéfalo do *T. hispidus*. (A-a) visão real do cérebro do squamata, (A) visão esquemática do posicionamento dos eletrodos na vista superior, com projeção de corte transversal do telencéfalo e bulbo olfativo em B e C e corte coronal em D do telencéfalo do lagarto; (B) vista superior do encéfalo do *T. hispidus* com posicionamento dos eletrodos nas áreas caracterizadas dos núcleos corticais; (C) vista de corte transversal com posicionamento dos eletrodos nas regiões do córtex dorsomedial (cinza escuro) e lateral (cinza claro) do telencéfalo; (D) distribuição lateral do telencéfalo com a distribuição dos eletrodos; (E) vista coronal do telencéfalo com ênfase no córtex, onde os eletrodos foram posicionados e estão em contato com os núcleos dorsomedial e altera, além da presença das cânulas no córtex lateral. Fonte: Imagem (acervo próprio).

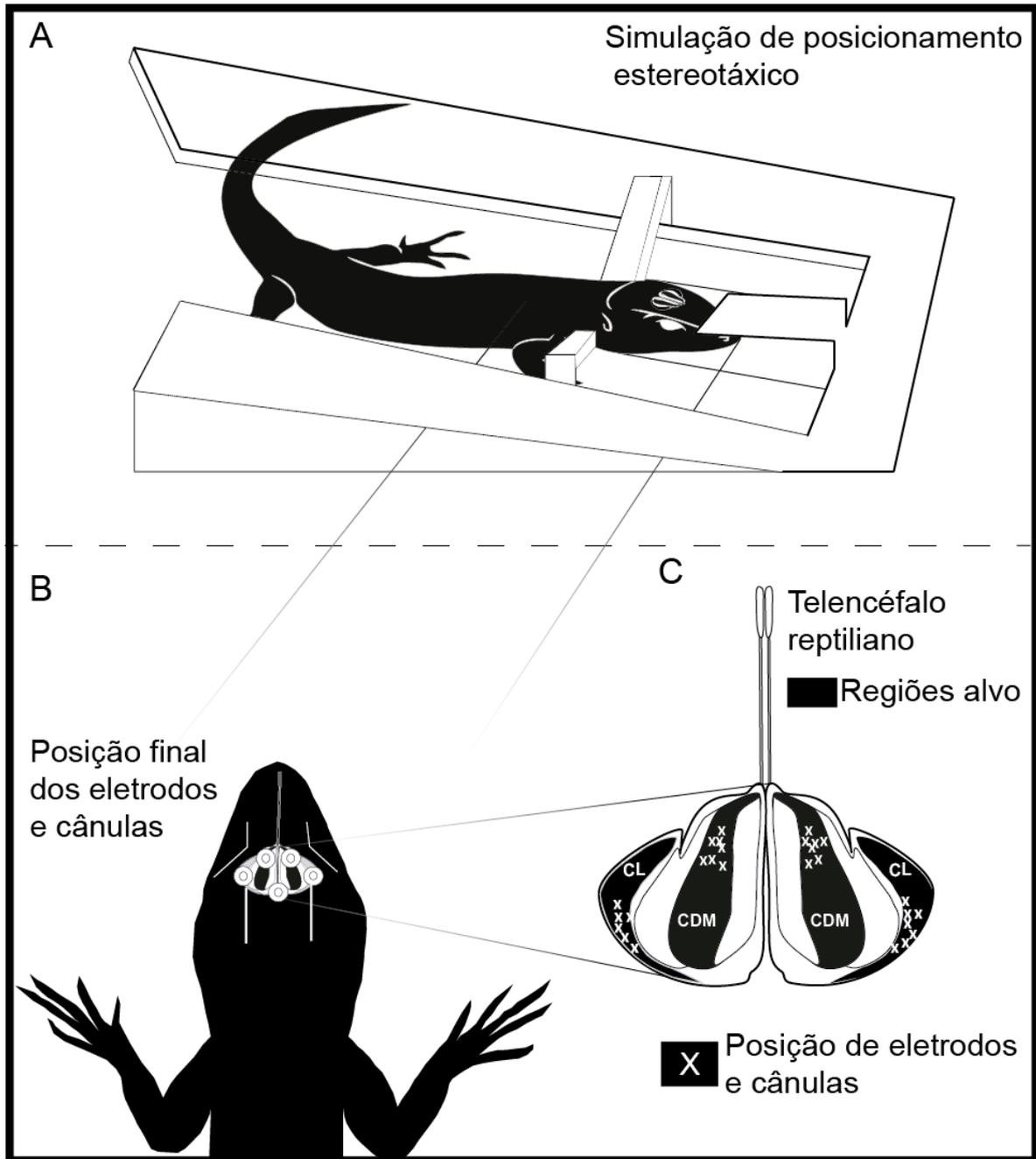


Figura 8 – Esquema ilustrativo do processo de implantação e distribuição dos eletrodos no crânio do lagarto *Tropidurus hispidus*. (A) Simulação do posicionamento estereotáxico para o lagarto *Tropidurus hispidus*; (B) vista superior do posicionamento dos eletrodos; (C) vista superior do posicionamento dos eletrodos diretamente nas regiões do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL), em cada um dos X está identificado a região de inserção dos eletrodos com base na anatomia de cada animal. Fonte: Imagem (acervo próprio).

4.6 Registro eletrofisiológico durante tarefa mnemônica

Todos os experimentos ocorreram em horário controlado das 08 horas às 14 horas, na sala de aquisição eletrofisiológica, com o aparato dentro da gaiola de faraday, para controle de interferências eletrofisiológicas. A obtenção do dado eletrofisiológico ocorreu com o aparelho Brainnet BNT 36 que dispõe de 32 canais de registro analógico e 4 digitais com capacidade de

processamento de 16 bits. Foram utilizados 5 canais de registro analógico, dos quais 4 foram para aquisição analógica do registro eletrofisiológico dos eletrodos distribuídos espacialmente no telencéfalo do *T. hispidus*, o quinto canal foi utilizado como referência para controle de aquisição. O Brainnet dispõe de conexão direta com o computador via programa EMSA acquisition. Através do programa foi possível registrar, filtrar (60 Hz) e processar ruídos maiores que 0,5 mV do sinal para análises posteriores. O sinal eletrofisiológico foi gravado à taxa de amostragem de 600 Hz.

4.6.1 Microinjeção

As microinjeções intra-córtex de solução salina ou muscimol nos animais foram realizadas de forma intercalada com o auxílio de agulhas gengivais (30 gauges), conectadas a um tubo de polietileno (1 mm de diâmetro), conectados a uma microseringa de 10 µL (Hamilton, EUA). Foi utilizada uma bomba de infusão (Insight, Brasil) com um fluxo de 0,20 µL/min. Após o período de cada microinjeção, as agulhas foram mantidas no interior do cérebro por mais 1 min com a finalidade de evitar o refluxo das substâncias injetadas.

Experimento II: Caracterização eletrofisiológica em modelo unitário de neurônio

Para caracterizarmos as correntes iônicas presentes nos neurônios piramidais do córtex dorsomedial, nós realizamos os procedimentos de preparo do tecido, dissociação dos neurônios e o registro através da técnica de fixação de voltagem do *patch-clamp*.

4.6.2 Preparo de tecido *in-vitro* para registro eletrofisiológico

Cinco lagartos foram profundamente anestesiados com cetamina (20 mg/kg) e xilazina (2 mg/kg). Após a perda do reflexo da córnea, os animais foram decapitados e foram rapidamente transferidas para uma solução cerebrospinal artificial (SCA) resfriada (lagarto: 126 mM NaCl, 3 mM KCl, 1,8 mM CaCl₂, 4 mM MgCl₂, 24 mM NaHCO₃, 10 mM HEPES, 0,72 mM NaH₂ PO₄, 20 mM glicose, pH 7,4) borbulhada com gás carbogênio (95% O₂, 5% CO₂) (adaptado de (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001; LABRA; BRANN; FADOOL, 2005)), com temperatura entre 2 - 4 °C.

4.6.3 Dissociação aguda de neurônios

Antes da dissociação realizada nos animais do presente estudo, foram realizados vários testes piloto para determinação do melhor protocolo a ser utilizado. Nessa etapa, utilizamos técnicas de dissociação aguda: puramente mecânicas em solução salina, apenas com o uso da papaína em SCA (sob diferentes concentrações: 2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL) e com a papaína + tripsina (graduadas em: 200 U/mL + 500 U/mL, 100 U/mL + 250 U/mL, 50 U/mL + 200 U/mL) com base em protocolos de dissociação de neurônios em répteis (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001; LABRA; BRANN; FADOOL, 2005). Com base nos resultados apresentados nesse teste piloto, adotamos a base da proporção: papaína + tripsina em 50 U/mL + 200 U/mL, respectivamente. O protocolo de preparo enzimático envolve as concentrações enzimáticas em unidades de atividade, aqui está declarada as quantidades corrigidas para uma solução de 100 mL com papaina a 50 U/mL e tripsina a 200 U/mL. Primeiro prepara-se a solução cerebral artificial com: NaCl: $147 \text{ mM} \times (58,44 \text{ g/mol}) \times 0,001 = 8,580 \text{ g}$, KCl: $4 \text{ mM} \times (74,55 \text{ g/mol}) \times 0,001 = 0,298 \text{ g}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: $1 \text{ mM} \times (203,31 \text{ g/mol}) \times 0,001 = 0,203 \text{ g}$, HEPES: $10 \text{ mM} \times (238,31 \text{ g/mol}) \times 0,001 = 2,383 \text{ g}$, D-glucose: $11 \text{ mM} \times (180,16 \text{ g/mol}) \times 0,001 = 1,982 \text{ g}$. Para as enzimas em 100 mL da solução (assumindo que ambas têm uma atividade específica de 10.000 unidades/mg): Papaina: $50 \text{ U/mL} \times 100 \text{ mL} = 5.000 \text{ U}$ de atividade total, quantidade de papaina = $5.000 \text{ U} / 10.000 \text{ U/mg} = 0,5 \text{ mg}$ e tripsina: $200 \text{ U/mL} \times 100 \text{ mL} = 20.000 \text{ U}$ de atividade total, quantidade de tripsina = $20.000 \text{ U} / 10.000 \text{ U/mg} = 2 \text{ mg}$. Na Figura 10, observamos o melhor aspecto da morfologia da membrana para escolha do neurônio isolado pós protocolo de dissociação.

Os encéfalos foram removidos após quatro minutos no líquido SCA e com tesoura de iridectomia foi separado o córtex do telencéfalo e foi picotado para imersão em solução com papaína + tripsina e livre de Ca^{2+} (em mM: NaCl: 147, KCl: 4, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1, HEPES: 10, D-glicose: 11; Papaína: 50 U/mL e Tripsina: 200 U/mL) e mantidos durante 10 minutos a 30°C para dissociação química. As fatias foram lavadas 3 vezes em solução tampão HEPES-SCA, e os neurônios foram dissociados mecanicamente por agitação com pipetas Pasteur polidas a fogo em tampão HEPES resfriado. Os neurônios foram mantidos em SCA para posterior registro eletrofisiológico.

4.6.4 Registro de neurônios

Durante as gravações, a solução externa foi de SCA oxigenado e a solução interna da pipeta de patch foi de: KCl: 20 mM, HEPES: 10 mM, Aspartate (assuming K-aspartate): 130

mM, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 2 mM, NaCl: 5 mM e Anfotericina: 0,234 mM, em pH de 7,2. Foi avaliado o registro de potencial de ação e neurônios do córtex telencefálico reptiliano. As ponteiros apresentaram resistência entre 5 e 7 $\text{M}\Omega$ na ponta com Step1 : 68,2, Step2 : 43,4, no aparelho Narishige PC-10. O tecido foi selado para produzir uma resistência (entre 28 - 32 $\text{M}\Omega$), desde que não houvesse morte da célula, pois foi necessário romper o interior succionado para produzir um meio citoplasmático com o interior da micropipeta , que permitiu uma leitura das características de capacitância, resistividade e de potencial de membrana da célula selada.

Após selar o neurônio, durante o registro foi utilizado dois protocolos: no primeiro protocolo, o neurônio foi submetido ao protocolo de *whole-cell* de fixação de voltagem, em que o potencial foi mantido em -70 mV, inicialmente aplicamos um pulso para -120 mV (3 ms), depois despolarizamos para +20 mV (2 ms), repolarizamos a 0 mV (1 ms), seguido de hiperpolarização para -90 mV (3 ms), por fim, retornamos ao potencial de repouso pré-estabelecido em -70 mV (1 ms). No segundo protocolo: o neurônio foi submetido a um protocolo de corrente/voltagem, em que a voltagem foi de -120 mV a 30 mV ao passo de 20 mV para avaliar as correntes (Figura 9). Os sinais foram pré-amplificados através do Axon 1550A, amplificados e digitalizados pelo Axopatch 200B (Patch Clamp Amplifier, AXON INSTRUMENTS, Artisan Technology Group ®) para processamento off-line através do ClampFit. O eletrodo foi cuidadosamente posicionado na célula alvo com micromanipuladores, para registro de neurônio piramidal (córtex dorsomedial – do hipocampo reptiliano), selecionados através de microscópio invertido Nykon na lente objetiva de 400x (Figura 10-H).

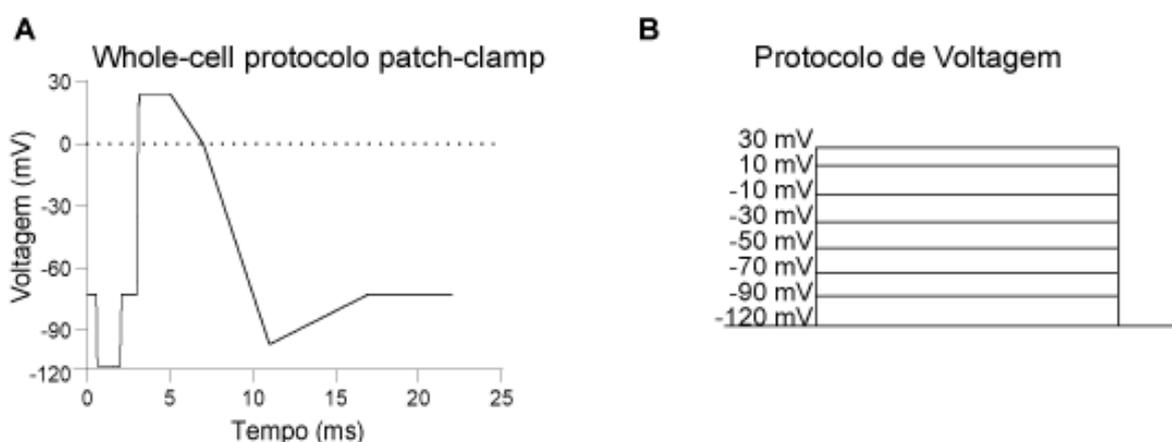


Figura 9 – Protocolos de registro neuronal pelo protocolo de *whole-cell* e escada de voltagem. Em A está o protocolo de *whole-cell* de fixação de voltagem. Em B está o protocolo de escada de voltagem, em que foi realizado o incremento de voltagem de 20 mV, dos -120 mV aos 30 mV.

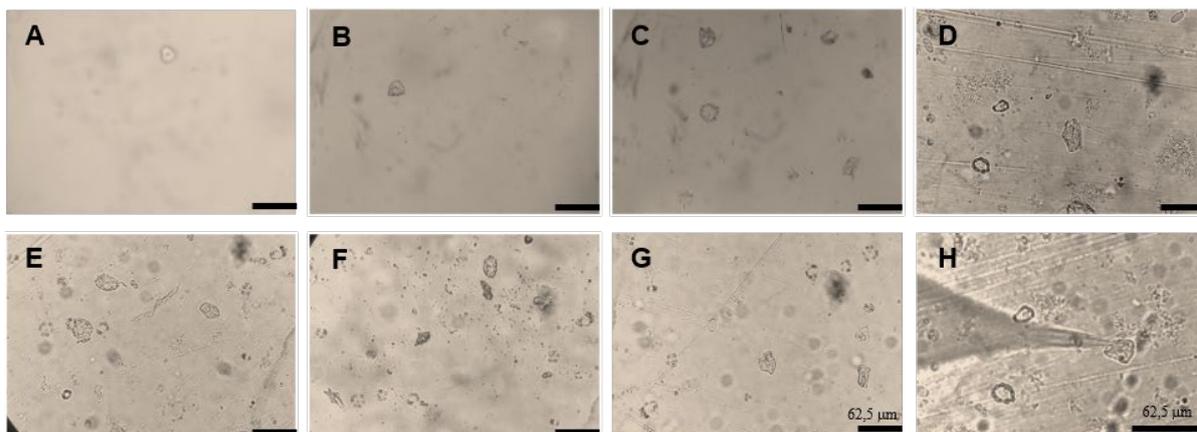


Figura 10 – Imagens de neurônio do córtex reptiliano do *Tropidurus hispidus* submetidos à processos de dissociações físico/químicas. Legenda: Aumento de 400 vezes, escala de 62,5 μm , fotos com ênfase na morfologia piramidal. Em sequência temos: A (dissociação mecânica – baixa viabilidade), B (dissociação com papaína a 2 mg/mL), C (dissociação com papaína a 1 mg/mL), D (dissociação com papaína a 0,5 mg/mL), E (dissociação com papaína + tripsina a 200 U/mL + 500 U/mL), F (dissociação com papaína + tripsina a 100 U/mL + 250 U/mL), G (dissociação com papaína + tripsina a 50 U/mL + 200 U/mL), H (dissociação com papaína + tripsina a 50 U/mL + 200 U/mL). A última foto aponta a pipeta selada com o neurônio para registro unitário. Fonte: autoria própria.

4.7 Análise dos dados

Os dados foram analisados através dos programas R (RStudio 2023.03.0+386 "Cherry Blossom") (R Posit Software, PBC, 2023), MATLAB (versão 2020 (MathWorks, Natick, MA, USA)) e Clampfit (versão 10.7) (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA).

4.7.1 Vídeos comportamentais

Todos os vídeos gravados tiveram os parâmetros comportamentais quantificados manualmente. O principal objetivo foi avaliar o tempo de congelamento, para isso, avaliamos a característica de frequência respiratória (alta e baixa) com o posicionamento dos membros (em flexão – imobilidade, relaxados – congelamento), diferenciando o congelamento da tanatose que consideramos a combinação dos membros relaxados e frequência respiratória baixa. Também quantificamos movimentos de cabeça (lateralização) e membros, locomoção, esquivas da gaiola e aguardamos 10 segundos para retornar a contagem de congelamento com base em estudos previamente padronizados (MEDEIROS, 2019; SANTOS, 2018, 2016). Avaliamos também o período em que os movimentos foram realizados pelo *T. hispidus*, afim de correlacionar com artefatos ou respostas fisiológicas e comportamentais pertinentes ao sinal eletrofisiológico. No **Apêndice 1** são apresentados mais detalhes sobre a análise dos padrões comportamentais observados durante o experimento.

Os dados coletados foram divididos entre ambientação e exposição, para diferenciar o período de exposição ao gato ou o período de reconhecimento ao espaço. Os movimentos foram quantificados em sua totalidade para diminuir o viés das respostas individuais.

Assim configuramos o modelo de análise, com base na biblioteca de análises robustas para dados comportamentais que corrige as análises com base no desvio padrão dos indivíduos (WRS2 em R - MAIR; WILCOX, 2020). Nesse modelo demos prioridade às comparações entre grupos e processos de memória. Desse modo, realizamos uma ANOVA de duas vias robusta, ao considerar grupos e processos de memória, com reamostragem de 5000 vezes, distribuição de Mahalanobis, desvio de 10 % para média truncada e teste pós-*hoc* de tukey para discriminar diferenças entre os grupos a partir do tempo de congelamento, por fim, foi considerado valor de $p < 0,05$ como significativo, também avaliamos o tamanho do efeito do modelo da ANOVA. A figura do comportamento de congelamento foi criada em ggplot2 (WICKHAM, 2016). Para detalhes, visualizar o código redigido em R, link: <https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/Congelamento.R>.

4.7.2 Sinal eletrofisiológico

Antes de qualquer procedimento com os dados, nós identificamos os ruídos não vinculados ao comportamento e não característicos da margem de aquisição de -0,5 a 0,5 mV, para ajustar ao período de registro. Rodamos as análises com base na média dos sinais dos eletrodos, pós tratamento.

No **Apêndice 2** são apresentados mais detalhes sobre os parâmetros utilizados nas análises seguintes. Apenas a caracterização descritiva dos neurônios não apresenta uma descrição de parâmetros no apêndice.

4.7.2.1 Análise no domínio do tempo – análise de dados funcionais

A análise no domínio do tempo avaliou padrões de comportamento do sinal eletrofisiológico no desenvolvimento temporal para os núcleos CDM e CL. Com base na análise comportamental, foi considerado que a análise na totalidade do tempo deve respeitar a presença das condições ambientação e exposição. Desse modo, avaliamos que o grupo CTL não apresenta diferenças entre si e, portanto, aleatoriamente selecionamos 5 animais para compor essa análise, a seleção foi realizada com no MATLAB com a função `randi([1 15],[1 5])`. *Refaça se os números forem repetidos.

Examinamos os dados brutos originais para identificar tendências, padrões e possíveis outliers por meio de gráficos de linha de cada sujeito e de cada condição. Em seguida, realizamos o pré-processamento dos dados, incluindo a suavização das curvas temporais usando a análise da biblioteca *functional data analysis funs* (FDAfuns) (RAMSAY; SILVERMAN, 1997; RAMSAY, 2022), garantindo que os parâmetros escolhidos: como o número de bases (200) e a ordem das bases (4), mínimo de número harmônicos (2, aos considerar 1 para a ambientação e 1 para a exposição), taxa de amostragem (600 Hz) e lambda (1e-6) como parâmetro de suavização; foram adequados para capturar a complexidade dos dados (sugere-se olhar o ebook *Optimal Score Book*, link: <https://www.psych.mcgill.ca/misc/fda/downloads/OptimalScoreBook.pdf>). Após o pré-processamento, realizamos uma análise exploratória de componentes principais (RAMSAY; SILVERMAN, 1997) nos dados suavizados para cada combinação de grupo (CTL e MUS), memória (aquisição, consolidação e evocação) e dias (treino e teste). Avaliamos os valores próprios e as autofunções resultantes para entender a estrutura subjacente dos dados. Para visualizar os resultados da análise de componentes principais plotamos a média, os autovalores e as autofunções para cada combinação de grupo e condição. Comparamos as médias harmônicas das autofunções para identificar possíveis diferenças entre os grupos e as condições. Em seguida, realizamos análises estatísticas nos escores harmônicos para investigar possíveis diferenças entre os grupos e as condições, quanto mais divergente fossem os valores harmônicos mais distante estaria o grupo dos outros. Para detalhes, visualizar o código redigido em MATLAB, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analise_no_dominio_do_tempo.m

Para analisar os grupos através dos valores harmônicos, consideramos integrar as variáveis de avaliação de grupos + dias (treino e teste), para cada um dos núcleos analisados (córtex dorsomedial e lateral). Avaliamos os pressupostos de homogeneidade de variância através do teste de levene (através da biblioteca “*rstatix*” (KASSAMBARA, 2021)) e analisamos a distribuição *qqplot* (através da biblioteca “*stats*”), posteriormente realizamos a ANOVA de uma via para analisar as diferenças nos escores harmônicos que explicam a dispersão dos grupos em suas diferenças na exposição e ambientação. O modelo de anova foi criado a partir da biblioteca “*stats*” e a análise realizada através da biblioteca “*rstatix*”, essas bibliotecas se auxiliam na produção dos resultados em R. Por fim, avaliamos o tamanho do efeito dessas comparações através da biblioteca “*effectsize*” (BEN-SHACHAR; LÜDECKE; MAKOWSKI, 2021). Para avaliar onde se encontravam as comparações entre os grupos, nós utilizamos a biblioteca “*emmeans*” (LENTH, 2021) através do pós-teste de Tukey. Para

detalhes, visualizar o código redigido em R, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/Analise_dados_funcionais_valores_harmonicos.R

4.7.2.2 Análise no domínio das frequências - Caracterização das bandas de frequências

Para a análise no domínio das frequências, considerando que características individuais de cada grupo devem ser investigadas, resolvemos manter os grupos controle para cada avaliação experimental. As análises a nível de frequência quebram os dados em seções e se diferenciam da avaliação na totalidade do tempo, o que poderia prejudicar a visualização de eventos intrínsecos desses animais.

As bandas de frequência foram definidas com base em estudos prévios para lagartos *Iguana iguana*, *Pogona vitticeps* e *Tropidurus hispidus* (AYALA-GUERRERO; MEXICANO, 2008; NORIMOTO *et al.*, 2020; SANTOS, 2021; SHEIN-IDELSON *et al.*, 2016), onde buscamos cruzar as informações acerca da faixa de frequências mais observadas e quais as que surgiam com a intervenção experimental. Utilizamos filtros para avaliar a composição do sinal, o filtro criado foi *designfilt* tem os tipos *low-pass* (passa-baixa), *bandstop* (bloqueio de frequência), *highpass* (passa-alta). Nós escolhemos os tipos *bandstop* para impedir ruídos de 60 Hz e de seus harmônicos (múltiplos de 60 Hz, que se tornam ruidosos ao sinal), além do tipo *highpass* para impedir oscilações abaixo de 1 Hz, que são superiores a 0,5 mV e prejudicam a análise das ondas lentas e foram aplicados ao sinal através da função *filtfilt*. Dessa maneira podemos reduzir a ocorrência de sinais que contaminassem as análises de potência.

Para declarar as bandas, uma importante ferramenta para o filtro está vinculada ao pacote *eeglab* do MATLAB (DELORME; MAKEIG, 2011), da qual utilizamos a função *eegfilt* para avaliar pontos de ancoragem no sinal e utilizamos a função de Hilbert para extrair os valores absolutos do sinal, assim definimos cinco bandas: banda 01 (2 – 4 Hz - delta), banda 02 (6 – 12 Hz - teta), banda 03 (15 – 25 Hz - beta), banda 04 (29 – 34 Hz - gama) e banda 05 (40 – 50 Hz - gama) (Figura 11). É importante declarar que foi considerado com base teórica que cada animal e núcleo podem trabalhar em faixas de oscilação própria, assim respeitamos o que foi visualizado através da amostragem (PALVA; PALVA, 2018). Para detalhes, visualizar o código em MATLAB, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analises_no_dominio_da_frequencia.m – acessar a seção: %%Declarar bandas de frequência.

Desse modo, foi realizada a extração dos dados com base na função de Welch (pwelch no MATLAB, com parâmetros: `srate = 600`, `window = 5*srate`, `overlap = window*0,2`, `nfft = 2^13`) para definir a prevalência das bandas de frequência relativas à potência do sinal, onde utilizamos dos valores de potência e filtros de frequência para extrair as bandas de interesse e calculamos a média de cada faixa de banda e dividimos pela soma das médias de cada uma delas, para definir a maior ocorrência relativa entre elas. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analises_no_dominio_da_frequencia.m - acessar a seção: %% Frequência relativa.

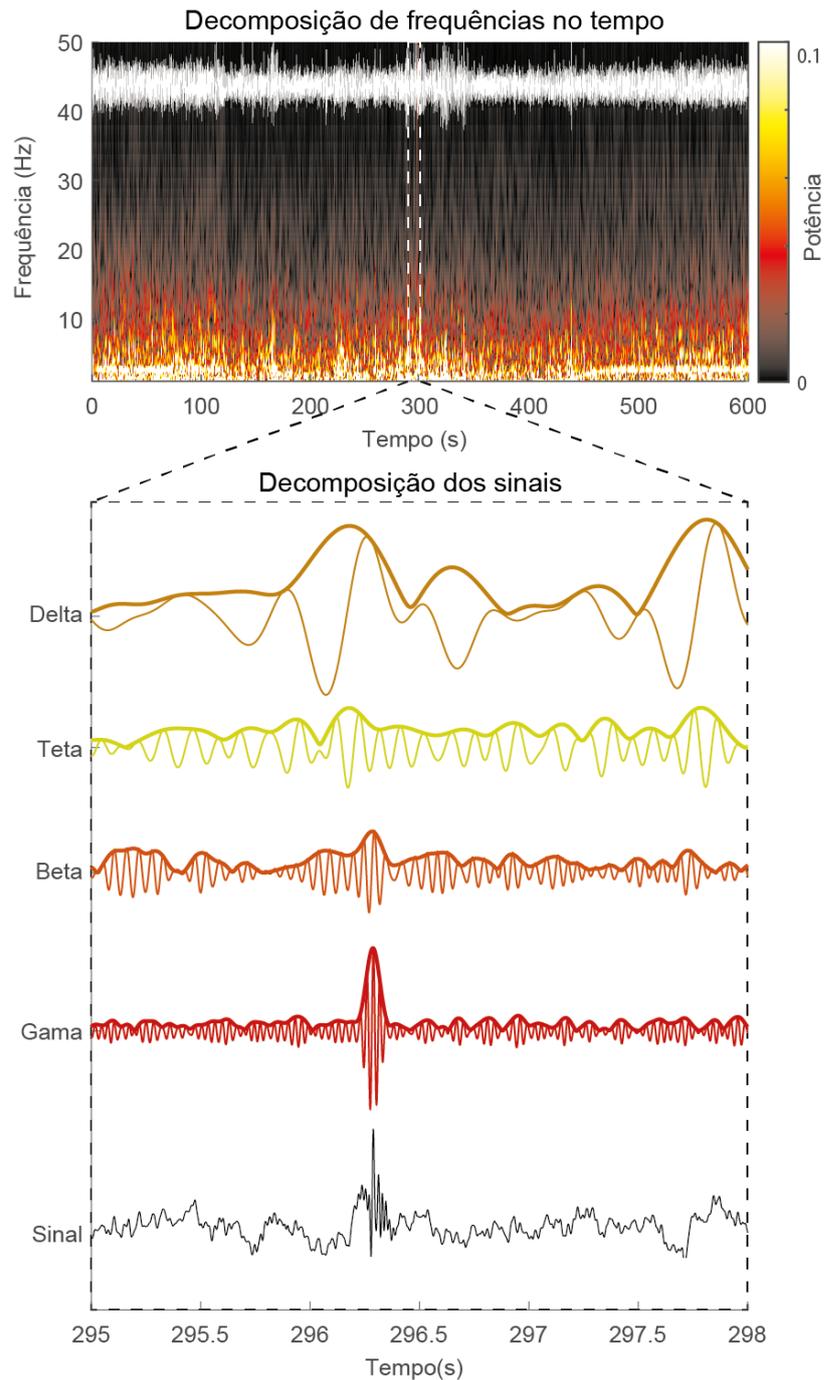


Figura 11 – Caracterização das bandas de frequências para análise do sinal eletrofisiológico no domínio da frequência. Legenda: apresentado o sinal bruto (branco) e um espectrograma colorido (paleta de cores quentes) da presença das frequências no tempo. Um recorte é realizado no tempo (3 s) para expor, na caixa em recorte, a presença das bandas melhor ajustadas à dinâmica do sinal eletrofisiológico. Fonte: autoria própria.

4.7.2.3 Análise de densidade de espectro de potência

Utilizamos a densidade de espectro de potência, com a padronização desses dados na distribuição temporal, foi realizada análise dos canais do córtex dorsomedial e lateral através da função de Welch (SOLOMON, 1991). Os parâmetros escolhidos foram: $srate = 600$, $window = 5*srate$, $overlap = window*0,2$, $nfft = 2^{13}$, da função (pwelch), para extrair o perfil do espectro eletrofisiológico das áreas gravadas, córtex dorsomedial e lateral, nos dias de treino e teste, sob as condições de ambientação e exposição para os grupos.

Para a análise estatística, realizamos o teste de normalidade de Anderson-Darling, que é uma maneira de avaliar se uma amostra de dados se ajusta a uma determinada distribuição teórica - neste caso, uma distribuição normal. Este teste é crucial para a validade de nossas análises paramétricas subsequentes, pois muitos testes estatísticos assumem a normalidade dos dados. As bandas de atividade (01 – 05) apresentaram um valor de $p > 0,05$, com um valor médio de p de 0,6, indicando que podemos assumir a normalidade desses dados. Também realizamos a análise de variância Bartlett, que é um teste para verificar a homogeneidade das variâncias entre os grupos. Esta análise também é importante para as nossas análises estatísticas subsequentes, pois muitos testes paramétricos requerem que as variâncias entre os grupos sejam iguais. Nossos dados apresentaram um valor de $p > 0,05$ (valor médio de $p = 0,8$), sugerindo que as variâncias dos grupos são homogêneas.

Foram realizados testes T de *Student*, os dados foram divididos entre as bandas de interesse e investigados sobre as condições de AMB vs, EXP (medidas pareadas) ou AMB (CTL vs. MUS, no processo de aquisição) ou EXP (CTL vs. MUS, nos processos de aquisição, consolidação e evocação) (medidas independentes) e avaliado o tamanho do efeito das comparações pelo teste de Cohen corrigido e os valores de p significativos ($p < 0,05$).

Para avaliar as comparações entre os grupos, foram considerados os períodos base na manipulação farmacológica pela droga muscimol. Isso ajuda a avaliarmos efeitos do muscimol sobre a atividade eletrofisiológica. Assim, consideramos o delineamento experimental, para definirmos as comparações com base na infusão do muscimol. Durante a aquisição o muscimol é infundido 15 min antes do treino, durante a consolidação imediatamente após o treino e na

evocação são 15 min antes do teste. Consideramos o momento da aquisição (treino e teste), consolidação (teste) e o momento da evocação (teste) como os candidatos para essa comparação.

Além disso, para cada uma das comparações, foi gerado um fator de normalização, cuja função é ajustar a potência das bandas de frequência, permitindo uma melhor visualização e comparação das tendências de aumento ou redução entre os diferentes grupos ou condições. Esse fator foi calculado com base na média das médias dos sinais comparados. Ao aplicar este fator de normalização, dividindo-o por cada valor de potência, podemos examinar as mudanças relativas na potência do sinal, em vez de focar nos valores absolutos, tornando mais fácil a detecção de mudanças sutis que podem ser ocultadas quando as diferenças absolutas de potência são grandes. As análises foram realizadas em MATLAB. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analises_no_dominio_da_frequencia.m - acessar a seção: %% Espectro de densidade; % Análise dos valores de potência entre as condições AMB vs. EXP; % Análise dos valores de potência entre as condições AMB/EXP (CTL vs. MUS).

4.7.2.4 Análise de coerência

A análise de coerência vai avaliar o quanto da comunicação entre o córtex dorsomedial e lateral estavam próximas, o que nos leva ao indicativo de funcionalidade entre as áreas. Esta técnica utiliza a transformada de Fourier para decompor o sinal de LFP em diferentes frequências e, em seguida, calcula a coerência através da função *mscohere* em MATLAB, com os seguintes parâmetros: $srate = 600$, $window = 5*srate$, $overlop = window*0,5$, $nfft = 2^{13}$, entre duas fontes de sinal. Além disso, para a análise comparativa, entre os dias de treino e teste, para os grupos CTL ou MUS, para os processos de aquisição, consolidação e evocação, foram realizados testes T *Student* e foi considerado valor de $p < 0,05$ como significativo. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analises_no_dominio_da_frequencia.m - acessar a seção: %% Coerência.

4.7.2.5 Análise de interação e fase

Para essas análises tivemos o cuidado de analisar o sinal com sinais reduzidos apenas pela redução manual, para evitar a perda de dados de fase do sinal original.

Para avaliar a sincronia entre os núcleos, foram realizadas análises de avaliação de fase, o valor de frequência de fase (VFF) ou *phase locking value (ajustado pelo acoplamento fase-amplitude)* (GONZÁLEZ *et al.*, 2020; PALVA; PALVA, 2012; TORT *et al.*, 2009, 2010). A VFF é a medida de sincronização de fase, desse tipo de análise, entre dois sinais. Foi usado na análise de dados neurais para quantificar o grau de coerência entre diferentes regiões do cérebro ou neurônios.

O VFF é definido como o valor absoluto da média do exponencial complexo da diferença de fase entre dois sinais: $VFF = |E(\exp(i*\Delta\theta))|$, onde $\Delta\theta$ é a diferença de fase entre os dois sinais em cada ponto no tempo, e 'E' é o operador de expectativa ao longo do tempo. O VFF varia de 0 a 1, onde um valor de 0 indica nenhuma sincronização entre os sinais e um valor de 1 indica sincronização perfeita, mas importante denotar que são valores dependentes do experimento. Um modelo exemplo segue os parâmetros: vetor de frequências lentas (1 a 10 Hz), vetor de frequências rápidas (10 a 50 Hz), largura da banda de fase lenta (3 Hz) e de fase rápida (10 Hz), além disso, foram filtrados os sinais com base na função do *eegfilt* e para extrair os valores do ângulo de fase foi utilizada a transformada de Hilbert.

Por fim, para extrair o índice de modulação através da função *plv_phase_modindex*, com base na estrutura do código de Gonzalez *et al.* (2020) em MATLAB. Para detalhes, visualizar o código: link: <https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/VFF-exemplo.m>.

Para comparar dos dados do índice de modulação de frequência de fase (IM - VFF) foi utilizada a anova de três vias para avaliar os grupos, as condições e os dias para cada um dos processos memória, os pressupostos foram avaliados através do teste de Levene para homogeneidade de variância e avaliamos a distribuição os resíduos através do *qqplot*. Avaliamos o índice de modulação para o acoplamento das bandas delta-beta (δ/β), delta-gama_(baixa) (δ/γ_m), delta-gama_(alta) (δ/γ_M), teta-beta (θ/β), teta-gama_(baixa) (θ/γ_m), teta-gama_(alta) (θ/γ_M). As análises estatísticas foram feitas no programa R. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/Analise_VFF.R.

Para avaliar a modulação intrínseca de cada núcleo, foi optado por analisar o acoplamento de fase-amplitude através do método desenvolvido pelo Laboratório de Neurofisiologia Computacional (TORT *et al.*, 2010). Um modelo exemplo da estrutura do código de acoplamento fase-amplitude possui os seguintes parâmetros: vetor de fase (1 a 10 Hz), vetor de amplitude (10 a 50 Hz), comprimento de banda de fase (3 Hz) e banda de amplitude (5 Hz). Além disso, foi utilizada a função *eegfilt* para filtrar o sinal com base nos vetores + bandas, para extrair os valores de ângulo de fase das frequências lentas e da amplitude

das frequências rápidas através da função de Hilbert. Por fim, utilizamos a função *ModeIndex_v2* para extrair os valores de índice de modulação (IM – AFA) em MATLAB. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/Analises_no_dominio_da_frequencia.m - acessar a seção: %% Análise de acoplamento de fase-amplitude.

Para comparar dos dados do índice de modulação de fase-amplitude (IM - AFA) foi utilizada a anova de três vias para avaliar os grupos, as condições e os dias para cada um dos processos memória. Avaliamos o índice de modulação para o acoplamento das bandas delta-beta (δ/β), delta-gama (δ/γ). As análises estatísticas foram feitas no programa R. Para detalhes, visualizar o código, link: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/Analise_AFA.R

4.7.2.6 Avaliação das variáveis comportamentais com as do domínio da frequência

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi usada para simplificar a complexidade de conjuntos de dados de alta dimensão, ao mesmo tempo em que retém suas características mais bem definidas. Esta técnica foi usada para simplificar conjuntos de dados complexos, identificamos tendências, padrões e visualizamos a relação entre múltiplas variáveis.

Foram consideradas as variáveis independentes: grupo, condição, dias, processo de memória (aquisição, consolidação e evocação), período da infusão do muscimol e uma variável de interação entre todas as VIs.

Foram consideradas as variáveis dependentes: valores de potência extraídas da densidade de espectro de potência tanto do córtex dorsomedial quanto do lateral, os índices de modulação de VFF, os índices de modulação de AFA, número de movimentos realizados entre ambientação e exposição.

Como parâmetros da análise foram definidos clusteres para integrar às análises as variâncias explicadas. Essa análise foi realizada com base em K-médias (*k-means*), onde foi avaliada a distância quadrática da distribuição dos indivíduos no entorno de sua dispersão. Foram calculados pontos de ancoragem elípticos para fixação das variáveis que se associassem a essa distribuição. Para, por fim, definir grupos que explicassem a variância das amostras.

A ACP transformou os dados originais através da transformada Z para eliminar as unidades de cada variável. Assim as variáveis foram correlacionadas, em um novo conjunto de variáveis descorrelacionadas chamadas componentes principais. O primeiro componente principal foi a combinação linear das variáveis de potência tanto do córtex lateral quanto do

dorsomedial, que explicam a maior parte da variabilidade nos dados. O segundo componente principal foi a combinação das variáveis de VFF que foram corrigidas pelas de AFA e explicam a maior parte da variabilidade restante.

No R, a ACP pode ser realizada com a ajuda do pacote FactoMineR. Este pacote fornece funções para realizar a ACP, bem como uma série de outras análises multivariadas. Ele fornece uma saída que inclui valores próprios, escores de componente principal, regressões sobre as variáveis, correlações entre as variáveis e com as componentes principais. Depois de realizar a ACP com FactoMineR, o pacote factoextra pode ser usado para visualizar os resultados.

Para detalhes completos da análise, incluindo os parâmetros utilizados, consulte a rotina disponível em: https://github.com/FR-heitor/POP/blob/main/Analise_PCA.R.

4.7.2.7 Descrição do padrão biofísico da membrana do neurônio piramidal

A análise consiste da descrição dos dados de 18 neurônios selados e registrados. Dos 18 neurônios, 3 neurônios não apresentaram aquisição da membrana e 15 foram registrados nos modelos de *whole-cell voltage-clamp* e comparados com registros de outros répteis na literatura para verificarmos o padrão de potencial de membrana, capacitância e corrente que estão presentes em células piramidais no hipocampo reptiliano do *Tropidurus hispidus*. Todas as medidas foram coletadas através do programa de avaliação de registro de célula, o Clampfit que é um programa gratuito disponibilizado pela Molecular Devices.

Vale ressaltar que a análise aqui descrita é puramente descritiva e investiga apenas as características básicas desses neurônios piramidais do núcleo do córtex dorsomedial do lagarto *Tropidurus hispidus*. Mas proporciona impacto no desenvolvimento e conhecimento da ciências acerca da características evolutivas da gênese e desenvolvimento dos neurônios.

5 RESULTADOS

5.1 Análise comportamental

Mensuramos o principal comportamento apresentado pelo *Tropidurus hispidus*, que é o congelamento, como um fator de aprendizado, comparando a exposição a estímulos aversivos e neutros durante o treino e teste. Para a análise do congelamento durante a ambientação foi observado efeito no processo de memória ($F(2, 11,89) = 5,73, p = 0,01, \sigma = 0,46$), em que o grupo MUS_AQ apresentou menor tempo de congelamento comparados a todos os grupos apenas no treino. Durante a exposição foi observado efeito de grupo ($F(1, 6,01) = 9,69, p = 0,02, \sigma = 0,46$) e processo de memória ($F(2, 8,66) = 9,27, p = 0,007, \sigma = 0,26$). O grupo MUS_AQ apresentou os menores tempos de congelamento, quando comparado a todos os grupos tanto no treino quanto no teste (Figura 12). A avaliação do congelamento nos mostra que provavelmente houve um prejuízo mnemônico associado à exposição do lagarto ao estímulo aversivo, quando inativamos o núcleo do córtex lateral (CL) durante o processo de aquisição. Esse evento pode estar associado à comunicação do CL com áreas de projeção ao córtex, o que pode ter inibido reações emocionais ao contexto também.

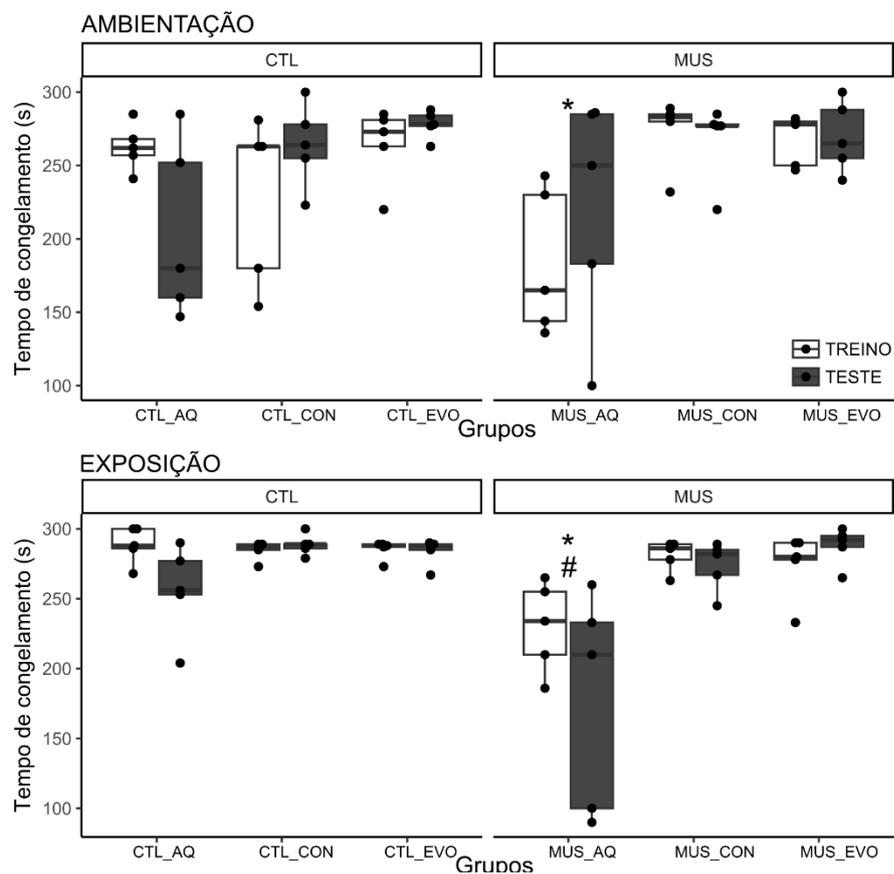


Figura 12 – Tempo de congelamento dos animais submetidos ao protocolo de memória aversiva. Representação em boxplot para o comportamento de congelamento. O ‘*’ indica $p < 0,05$ e que o grupo muscimol MUS_AQ apresentou menor tempo de congelamento em comparação aos grupos no treino e ‘#’ quando avaliado no teste.

5.2 Análise no domínio do tempo

Para a análise funcional do córtex dorsomedial, as funções retratam no treino que o aumento de amplitude ocorre com a exposição ao estímulo aversivo e reexposição ao espaço durante o teste. O inverso é observado quando avaliamos a habituação no treino e exposição ao estímulo neutro no teste (Figura 13-A e C). A análise funcional mostrou haver dois grupamentos (Tabela 1), em que diferenciamos a exposição da ambientação. Foi encontrado que a maior alteração observada é associada a exposição durante a tarefa (Figura 13-B e D). E que a dispersão entre os grupos foi amostrada através dos harmônicos.

Tabela 1 – Dados extraídos da análise de dados funcionais através de componentes principais, do CDM.

Análise de dados funcionais				
Condição	Grupo	Autofunção	% de Variância Explicada	Autovalor
Treino				
CTL		1	64%	225,71
		2	28%	98,1
MUS_AQ		1	78%	4869
		2	20%	1277
MUS_CON		1	58%	5
		2	20%	2
MUS_EVO		1	96%	213
		2	2%	3,9
Teste				
CTL		1	97%	135,29
		2	2%	3,36
MUS_AQ		1	59%	80,81
		2	39%	52,8
MUS_CON		1	78%	3
		2	22%	1
MUS_EVO		1	90%	27
		2	9.50%	0,3

Nota: córtex dorsomedial (CDM).

Ao avaliarmos o córtex dorsomedial durante a etapa do treino para os grupos, foi observado efeito de grupo para a exposição ($F(3,16) = 4,808$, $p = 0,01$ e $\sigma = 0,47$) e ambientação ($F(3,16) = 5,4$, $p = 0,006$ e $\sigma = 0,53$) (Figura 13-E). Durante o treino, para a exposição, foi mostrada a maior dispersão dos indivíduos do grupo MUS_AQ, que explica a diferença na potência e frequência do sinal em comparação aos grupos MUS_CON ($p = 0,003$) e MUS_EVO ($p = 0,01$) e ao grupo CTL ($p = 0,01$). Da mesma forma na ambientação, a maior dispersão do

grupo foi do grupo MUS_AQ em comparação aos grupos MUS_CON ($p = 0,002$), MUS_EVO ($p = 0,002$) e CTL ($p = 0,01$).

Para a etapa de teste foi observado efeito de grupo para a exposição ($F(3,16) = 3,969$, $p = 0,027$ e $\sigma = 0,43$) e ambientação ($F(3,16) = 10,23$, $p = 0,0005$ e $\sigma = 0,66$) (Figura 13-E). Durante o teste, para a exposição, percebemos um aumento na dispersão dos indivíduos do grupo MUS_EVO que explica a diferença na potência e frequência do sinal em comparação ao grupo MUS_AQ ($p = 0,007$), MUS_CON ($p = 0,03$) e CTL ($p = 0,01$). Da mesma forma na ambientação, a maior dispersão do grupo foi do grupo MUS_EVO em comparação aos grupos MUS_AQ ($p = 0,003$), MUS_CON ($p = 0,03$) e CTL ($p = 0,0001$).

Assim, fica condicionado que o aumento de amplitude do sinal sobre as condições dos grupos MUS_AQ e MUS_EVO também está associado à infusão da droga do muscimol injetado no córtex lateral que projeta sinapses diretas ao córtex dorsomedial. Esses neurônios do córtex lateral são mais globulares e apresentam um perfil inibitório, então é provável que a inibição dessa via de transmissão gabaérgica, tenha alterado o padrão eletrofisiológico do córtex dorsomedial.

A análise funcional sobre o sinal do córtex lateral também encontrou estruturas de agrupamento, semelhantes ao observado para o córtex dorsomedial (Figura 14-A e C). Também foram encontrados dois grupamentos que explicaram as características da reexposição na ambientação e exposição (ao estímulo neutro) (Figura 14-B e D).

Tabela 2 - Dados extraídos da análise de dados funcionais através de componentes principais, do CL

Análise de dados funcionais				
Condição	Grupo	Autofunção	% de Variância Explicada	Autovalor
Treino				
CTL		1	96,50%	217,83
		2	2,30%	5,28
MUS_AQ		1	66%	786,75
		2	29%	338,47
MUS_CON		1	55%	5,3
		2	20%	1,9
MUS_EVO		1	97%	203
		2	1,50%	3,3
Teste				
CTL		1	94%	41,3
		2	4%	1,85
MUS_AQ		1	74%	76,49
		2	20%	20,35
MUS_CON		1	79%	0,4
		2	20%	0,2
MUS_EVO		1	85,40%	1,82
		2	12,30%	0,3

Nota: córtex lateral (CL).

Ao avaliarmos o córtex dorsomedial durante a etapa do treino para os grupos, foi observado efeito de grupo para a exposição ($F(3,16) = 2,254$, $p = 0,1$) e ambientação ($F(3,16) = 13,47$, $p = 0,0001$ e $\sigma = 0,72$) (-E). Durante o treino, para a exposição, foram destacadas diferenças o grupo MUS_AQ em comparação aos grupos MUS_CON ($p = 0,001$) e MUS_EVO ($p = 0,03$) e ao grupo CTL ($p = 0,04$). E na ambientação, a maior dispersão do grupo foi do grupo MUS_AQ em comparação aos grupos MUS_CON ($p = 0,00007$) e MUS_EVO ($p = 0,00008$) e ao grupo CTL ($p = 0,0001$).

Para a etapa de teste foi observado efeito de grupo para a exposição ($F(3,16) = 4,729$, $p = 0,015$ e $\sigma = 0,47$) e ambientação ($F(3,16) = 6,309$, $p = 0,005$ e $\sigma = 0,54$) (Figura 13-E). Durante o teste, para a exposição, percebemos um aumento na dispersão dos indivíduos do grupo MUS_EVO que explica a diferença na potência e frequência do sinal em comparação ao grupo MUS_AQ ($p = 0,006$), e CTL ($p = 0,0041$). Da mesma forma na ambientação, a maior dispersão do grupo foi do grupo MUS_EVO em comparação aos grupos MUS_AQ ($p = 0,005$) e CTL ($p = 0,00008$).

Os agrupamentos extraídos para córtex dorsomedial e lateral, nos grupos CTL, MUS_CON e MUS_EVO, explicitam que há uma divisão entre as condições de treino (exposição ao estímulo aversivo) e teste (exposição ao estímulo neutro) e também entre as condições de ambientação e exposição. O mesmo não ocorreu para o grupo MUS_AQ, que denota um prejuízo na fase de aquisição da memória aversiva causada pela inativação do córtex lateral antes da fase de treino. A análise também reportou que a infusão do muscimol também afetou ao grupo MUS_EVO, mas não impediu que o sinal apresentasse um padrão de resposta semelhante ao observado no treino. Isso nos leva a compreender que a participação do córtex lateral, pode impactar na etapa da aquisição mnemônica.

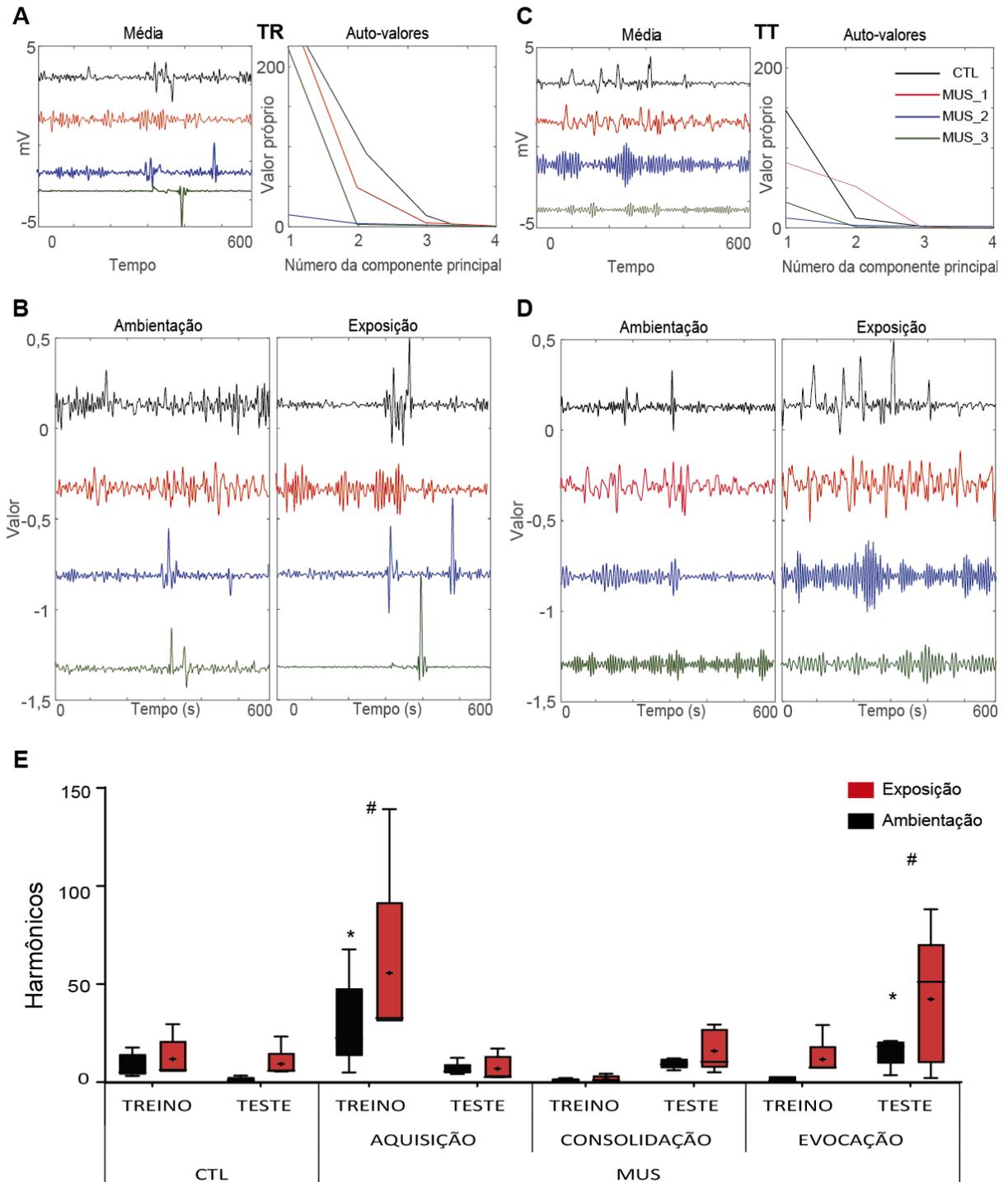


Figura 13 – Análise temporal dos dados do córtex dorsomedial (CDM) dos animais submetidos à tarefa de memória aversiva. Em A valores do treino (TR) e em C do teste (TT) está presente o dado médio de cada grupo dos dados complexos suavizados, além dos números de grupamentos utilizados para definirmos autovalores e autofunções. Em B (TR) e em D (TT) está presente os sinais suavizados e extraídos em autofunção que caracteriza a característica mais proeminente do sinal eletrofisiológico no tempo. Em E apresentamos que as maiores a dispersão em boxplot da ambientação (em preto) e exposição (em vermelho) e quais diferenças ocorrem para o grupo MUS_AQ que apresentou valor harmônico maior que os outros grupos durante o treino. As diferenças observadas foram destacadas com ‘*’ para a ambientação contra exposição e ‘#’ para a exposição entre os grupos através do teste de ANOVA de uma via.

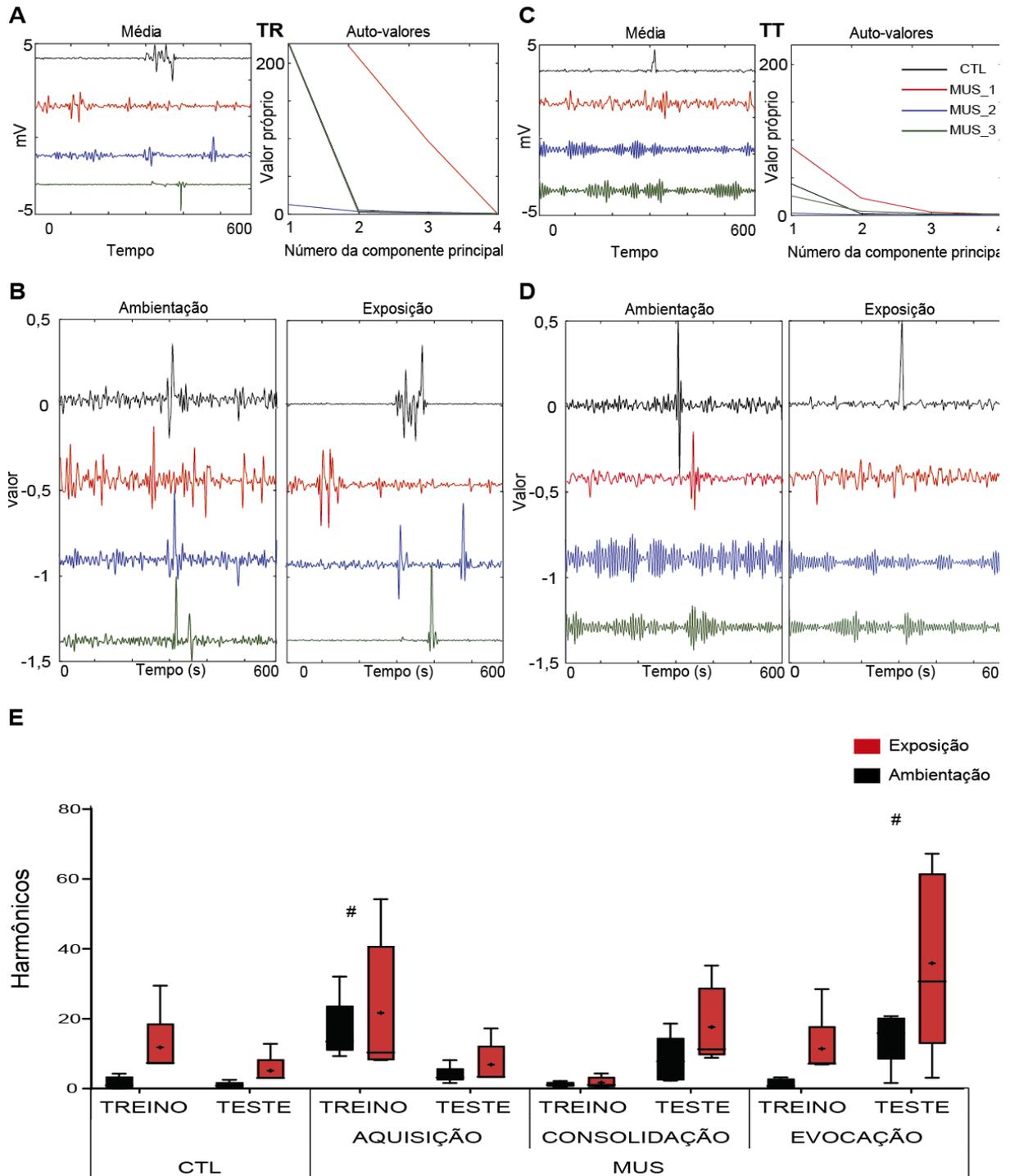


Figura 14 – Análise temporal dos dados do córtex lateral (CL) dos animais submetidos à tarefa de memória aversiva. Em A valores do treino (TR) e em C do teste (TT) está presente o dado médio de cada grupo dos dados complexos suavizados, além dos números de grupamentos utilizados para definirmos autovalores e autofunções. Em B (TR) e em D (TT) está presente os sinais suavizados e extraídos em autofunção que caracteriza a característica mais proeminente do sinal eletrofisiológico no tempo. Em E apresentamos que as maiores a dispersão em boxplot da ambientação (em preto) e exposição (em vermelho) e quais diferenças ocorrem para o grupo MUS_AQ que apresentou valor harmônico maior que os outros grupos durante o treino e MUS_EVO durante o teste. As diferenças observadas foram destacadas com ‘*’ para a ambientação contra exposição e ‘#’ para a exposição entre os grupos através do teste de ANOVA de uma via.

5.3 Análise no domínio das frequências

Analizamos o comportamento eletrofisiológico para padronizar as bandas de frequência para cada fase experimental: aquisição, consolidação e evocação.

As análises de decomposição do sinal complexo revelam a distribuição inicial das bandas de frequência proeminentes. Foram caracterizadas seis bandas diferentes: banda 01 (2 a 4 Hz), banda 02 (6 a 12 Hz), banda 03 (15 a 25 Hz), banda 04 (29 a 33 Hz) e banda 05 (35 a 50). O sinal eletrofisiológico coletado tanto no núcleo CDM e CL do telencéfalo apresentaram domínio de frequências entre 1 a 4 Hz (Figura 15), sendo o trecho de 2 a 4 Hz o que mais variou dentro da banda de frequência. O padrão de oscilação de 1 Hz foi presente em todos os sinais coletados e não foi observada mudança significativa sobre sua ocorrência independente do contexto apresentado, logo tomamos a variação de 2 a 4 Hz (banda 01).

A variação de amplitude média foi avaliada dentro de -0,5 a 0,5 mV, com base nas análises de domínio do tempo, (Figura 16) onde consideramos a etapa de controle do registro eletrofisiológico importante para padronizar as características do sinal bruto que foram mantidas para as análises seguinte, como mencionado na metodologia.

Com a padronização, definimos a faixa de frequências de 1 a 55 Hz para análises de densidade de espectro e potência, coerência e acoplamento de fase. Selecionamos as bandas de acordo com Santos (2021) e Norimoto (2020) e separamos nas bandas de 01 a 05 (Figura 17).

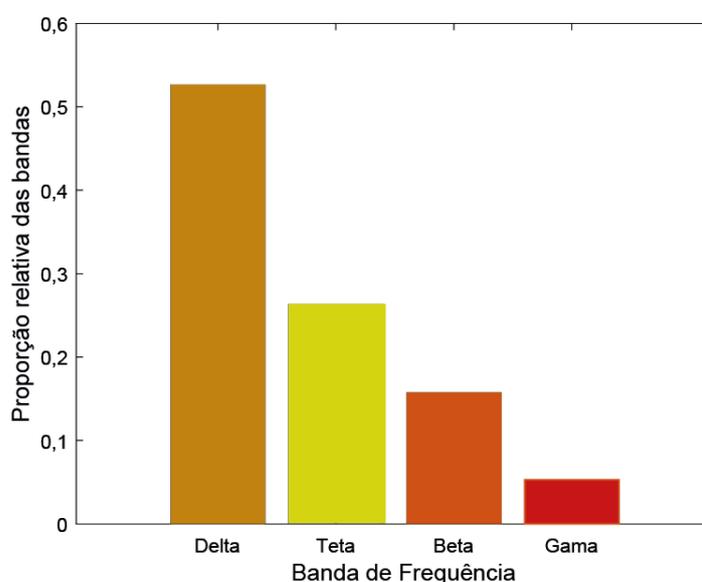


Figura 15 – Frequência relativa presente nos registros eletrofisiológicos do lagarto *Tropidurus hispidus*.

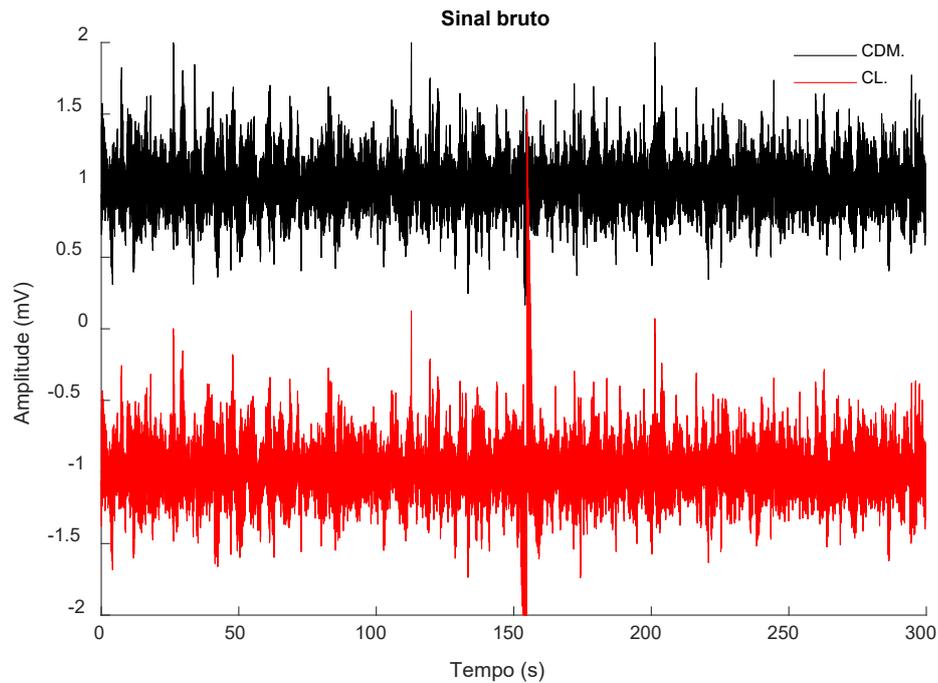


Figura 16 – Sinal bruto extraído do lagarto *Tropidurus hispidus*. Apresentação do sinal bruto relacionado ao Córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL).

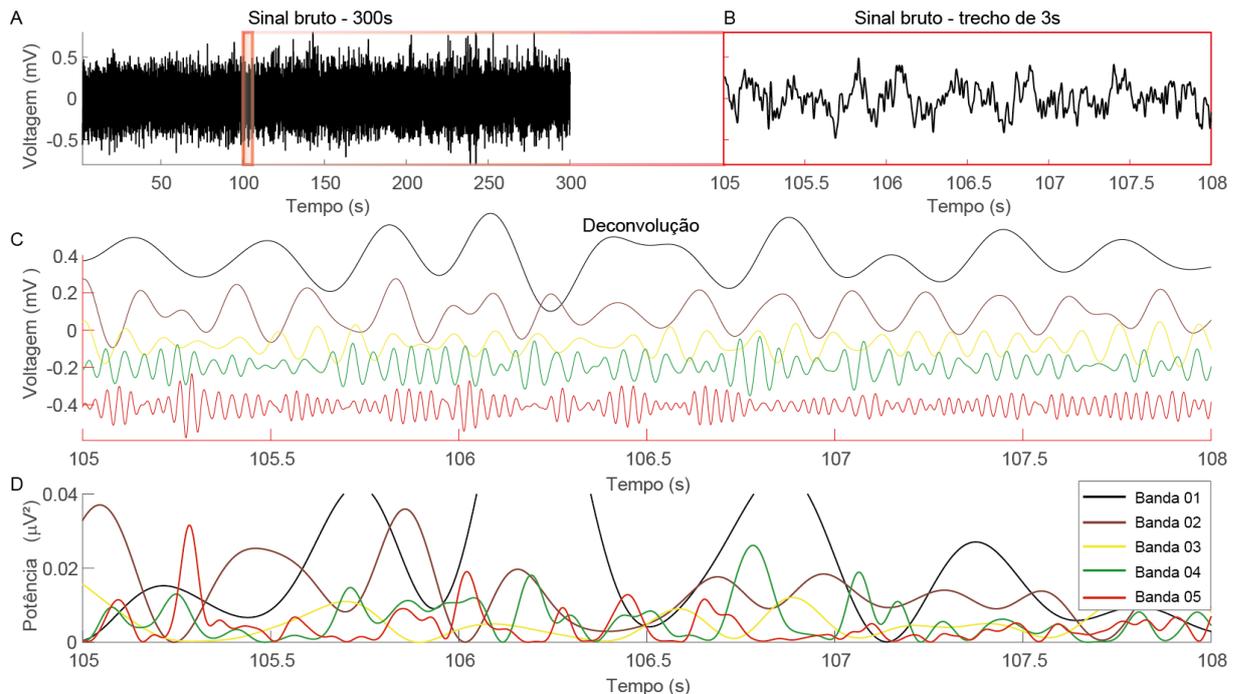


Figura 17 – Fragmentação do sinal eletrofisiológico na condição de ambientação para o lagarto *Tropidurus hispidus*. Em A temos o sinal bruto padronizado no intervalo de amplitude de 0,5 mV no tempo de 300 segundos. Em B apresentamos um trecho de 3 segundos do sinal, para apresentar a fragmentação das frequências de o compõem. Em C separamos o sinal bruto em sinais senoidais de acordo à banda estabelecida anteriormente. Em D temos as potências das bandas de 01 a 05.

5.4 Densidade de espectro de potência (DEP)

A avaliação do domínio das frequências está associada ao padrão de oscilação de atividade neuronal. A frequência de atividade registrada variou entre as condições dos grupos controle (CTL) e muscimol (MUS) principalmente para o processo de aquisição, mas não para consolidação e evocação, durante a fase de treino (TR) e teste (TT), durante a ambientação (AMB) e exposição (EXP), para os núcleos do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL).

5.4.1 DEP - Grupo controle

Foram analisadas as potências das bandas de acordo com a padronização realizada na descrição metodológica para os três processos mnemônicos analisados.

Para a **aquisição (CTL_AQ)**, durante a fase de treino, o núcleo do córtex dorsomedial apresentou aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 3,07$, $p = 0,009$, $d' = 1,08$) e 04 ($t(4) = 2,22$, $p = 0,03$, $d' = 0,8$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste houve aumento da atividade das bandas 02 ($t(4) = 2,97$, $p = 0,01$, $d' = 1,05$) e 03 ($t(4) = 1,96$, $p = 0,04$, $d' = 0,7$) da ambientação para a exposição (Figura 18-D).

Já para o núcleo do córtex lateral foi observado aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 2,19$, $p = 0,03$, $d' = 0,78$) e 04 ($t(4) = 2,25$, $p = 0,02$, $d' = 0,79$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste não houveram alterações significativas da atividade entre ambientação e exposição em todas as bandas (Figura 19-D).

O aumento de potência das bandas 01 e 02 declaram o envolvimento com a atividade de reconhecimento e das bandas 03 e 04 com a formação e evocação da memória.

Para a **consolidação (CTL_CON)**, durante a fase de treino, o núcleo do córtex dorsomedial não apresentou diferenças da atividade das bandas 01-05, quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste observamos aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 3,91$, $p = 0,008$, $d' = 1,75$) e banda 02 ($t(4) = 2,79$, $p = 0,02$, $d' = 1,25$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição (Figura 22-D).

Para o núcleo do córtex lateral ocorreu aumento da atividade da banda 01 ($t(4) = 2,35$, $p = 0,03$, $d' = 1,58$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste observamos aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 4,43$, $p = 0,01$, $d' = 1,98$) e banda 02 ($t(4) = 2,62$, $p = 0,02$, $d' = 1,17$) (Figura 23-D), quando comparados os períodos de ambientação e exposição.

É importante denotar que o aumento da potência da banda 01 e 02, principalmente no teste, reforça a ideia de que as bandas de baixa frequência nesses animais tem um papel importante no contexto cognitivo e de processamento da informação no cérebro dos répteis.

Para a **evocação (CTL_EVO)**, durante a fase de treino, no núcleo do córtex dorsomedial foi observado aumento da atividade das bandas 02 ($t(4) = 5,49$, $p = 0,005$, $d' = 4,9$), banda 03 ($t(4) = 4,48$, $p = 0,01$, $d' = 4,0$), banda 04 ($t(4) = 4,62$, $p = 0,009$, $d' = 4,13$) e banda 05 02 ($t(4) = 4,03$, $p = 0,02$, $d' = 3,6$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste houve aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 3,2$, $p = 0,001$, $d' = 2,8$), 04 ($t(4) = 4,77$, $p = 0,0003$, $d' = 4,3$) e 05 ($t(4) = 4,96$, $p = 0,0001$, $d' = 4,5$) da exposição para ambientação (Figura 26-D).

Quanto ao núcleo do córtex lateral não foi observado aumento da atividade das bandas de 01 – 05, quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste foi aumentada a potência nas bandas 01 ($t(4) = 6,32$, $p = 0,003$, $d' = 5,65$), 03 ($t(4) = 3$, $p = 0,04$, $d' = 2,68$), 04 ($t(4) = 4,7$, $p = 0,009$, $d' = 4,2$) e 05 ($t(4) = 9,51$, $p = 0,0006$, $d' = 8,51$) quando comparados os períodos de ambientação e exposição (Figura 27-D).

Para a comparação entre esses eventos, podemos perceber a importância do aumento da potência das bandas lentas em pareamento às bandas de alta frequência, pois nos indica a capacidade do *T. hispidus* de responder a tarefas de memória. Quando suas funções estão preservadas.

5.4.2 DEP – Grupo MUS

Ao avaliar o grupo MUS avaliamos a atividade do córtex dorsomedial e córtex lateral para os processos de aquisição, consolidação e evocação da memória.

Para a **aquisição (MUS_AQ)**, durante a fase de treino, o núcleo do córtex dorsomedial não apresentou diferença da atividade das bandas 01 – 05, quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste, também não houve diferença na atividade das bandas 01 – 05 da ambientação para a exposição (Figura 20-D).

Para o núcleo do córtex lateral não foi observada diferença da atividade das bandas 01 – 05, quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste também não apresentou diferença na atividade das bandas 01 – 05 da ambientação para a exposição (Figura 21-D).

Percebe-se o prejuízo provocado pelo efeito do muscimol no córtex lateral ao dorsomedial também, o que nos indica um prejuízo significativo das funções de memória. Também é possível observar que a inibição apresenta um efeito agudo com aumento de potências.

Para a **consolidação (MUS_CON)**, durante a fase de treino, o núcleo do córtex dorsomedial apresentou aumento da atividade das bandas 02 ($t(4) = 2,37$, $p = 0,03$, $d' = 1,06$) e 04 ($t(4) = 2,27$, $p = 0,04$, $d' = 1,02$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste não houve diferença na atividade das bandas 01 – 05 da ambientação para a exposição (Figura 24-D).

Quando avaliado o núcleo do córtex lateral apresentou aumento da atividade das bandas 02 ($t(4) = 2,33$, $p = 0,03$, $d' = 1,05$) e 04 ($t(4) = 2,23$, $p = 0,04$, $d' = 0,99$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste não apresentou diferença na atividade das bandas 01 – 05 da ambientação para a exposição (Figura 25-D).

Obtemos resultados semelhantes ao grupo CTL para o treino, mas para o teste parece ter havido um prejuízo associado à inibição. No entanto, apenas a potência das bandas é insuficiente para declarar o prejuízo, visto que na análise funcional não foi percebido prejuízos claros.

Para a **evocação (MUS_EVO)**, durante a fase de treino, o núcleo do córtex dorsomedial apresentou aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 2,74$, $p = 0,03$, $d' = 1,06$), foi marginalmente significativa para a banda 02 ($t(4) = 2,11$, $p = 0,05$, $d' = 0,94$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste também houve aumento na atividade das 01 ($t(4) = 2,58$, $p = 0,03$, $d' = 1,15$), quando comparado entre ambientação e exposição (Figura 28-D).

Quando avaliado o núcleo do CL foi observado aumento da atividade das bandas 01 ($t(4) = 2,74$, $p = 0,03$, $d' = 1,06$) e 02 ($t(4) = 2,29$, $p = 0,04$, $d' = 1,02$), quando comparados os períodos de ambientação e exposição. Para a avaliação de teste não apresentou diferença na atividade das bandas 01 – 05 da ambientação para a exposição (Figura 29-D).

Para a inibição durante o processo de evocação, o grupo não responde da mesma maneira, com prejuízos declarados como ocorreu com o processo de aquisição. Durante a evocação os animais apresentaram aumento da potência das bandas 01 e 02 e reforça que as baixas frequências são essenciais para a função cognitiva desses animais.

5.4.3 Interação entre CTL e MUS

Na etapa da **aquisição** (Figura 30) para o núcleo dorsomedial do córtex, durante o treino, na ambientação ao comparar as bandas de frequências entre os grupos CTL_AQ e MUS_AQ apenas a banda 02 apresentou aumento da potência para o grupo MUS_AQ comparado ao CTL_AQ ($t(8) = 2,33$, $p = 0,04$, $d' = 1,47$), para a exposição mantém-se a maior potência para o MUS_AQ ao CTL_AQ para a banda 02 ($t(8) = 2,33$, $p = 0,04$, $d' = 1,47$).

Durante o teste, observamos que mesmo após o efeito do muscimol foi observado aumento da potências das bandas de frequência do CTL_AQ para o MUS_AQ na ambientação, para as bandas 02 ($t(8) = 9,59$, $p = 0,00001$, $d' = 3,03$), bandas 03 ($t(8) = 6,32$, $p = 0,0002$, $d' = 2$), bandas 04 ($t(8) = 5,26$, $p = 0,0007$, $d' = 1,66$) e bandas 05 ($t(8) = 3,64$, $p = 0,0065$, $d' = 1,15$). Para a exposição consideramos o resultado anterior e a priori foi apresentado aumento das bandas 02 ($t(8) = 2,86$, $p = 0,01$, $d' = 2,49$), bandas 03 ($t(8) = 2,11$, $p = 0,03$, $d' = 1,09$), bandas 04 ($t(8) = 2,13$, $p = 0,033$, $d' = 0,9$) e bandas 05 ($t(8) = 1,93$, $p = 0,045$, $d' = 0,79$), mas não para a banda 01.

Para o núcleo lateral do córtex, durante o treino, na ambientação ao comparar as bandas de frequência entre os grupos CTL_AQ e MUS_AQ não foram observadas diferenças entre os grupos, para a exposição mantém-se o que foi observado na ambientação.

Para o teste, na ambientação, ao comparar as bandas de frequência a maior atividade do núcleo refere-se ao grupo CTL_AQ comparado ao MUS_AQ, que apresentou a maior atividade para as bandas 01 ($t(8) = 4,27$, $p = 0,003$, $d' = 2,71$), 03 ($t(8) = 3,48$, $p = 0,008$, $d' = 2,20$) e 05 ($t(8) = 3,36$, $p = 0,01$, $d' = 2,13$) e marginal para a banda 04 ($t(8) = 2,07$, $p = 0,07$, $d' = 1,13$). Para a exposição não foram observadas diferenças entre CTL_AQ e MUS_AQ.

Desse modo, pode-se declarar que o efeito da inibição do córtice lateral foi prejudicial ao grupo MUS_AQ ao impedir a formação e evocação da memória ao comparar com o grupo CTL_AQ.

Na etapa de **consolidação** (Figura 31) avaliamos o teste, para o CDM durante a ambientação o grupo CTL_CON apresentou aumento de atividade comparado ao MUS_CON para as bandas 04 ($t(8) = 13,52$, $p = 0,02$, $d' = 1,84$) e marginal para banda 05 ($t(8) = 10,94$, $p = 0,06$, $d' = 1,36$), durante a exposição para as bandas 02 ($t(8) = 3,73$, $p = 0,006$, $d' = 2,36$), 03 ($t(8) = 5,84$, $p = 0,0004$, $d' = 3,69$), 04 ($t(8) = 12,19$, $p = 0,000002$, $d' = 7,71$) e 05 ($t(8) = 10,44$, $p = 0,000006$, $d' = 6,61$).

Para o núcleo do córtex lateral, durante a ambientação foi observada diferenças significativas para o grupo CTL_CON com maior potência do que MUS_CON apenas para a banda 04 ($t(8) = 4,08$, $p = 0,003$, $d' = 2,58$), durante a exposição não houve diferença entre CTL_CON e MUS_CON.

Através dessa observação, é possível associar que a resposta presente na avaliação isolada com o grupo MUS_CON parece ter sido prejudicada em algum nível, embora não seja possível diferenciar o observado do comportamento e da análise funcional.

Na etapa de **evocação** (Figura 32) avaliamos o teste, para o núcleo do córtex dorsomedial durante a ambientação, foi observado aumento da potência do grupo MUS_EVO para o CTL_EVO na banda 01 com diferença significativa ($t(8) = 3,05$, $p = 0,02$, $d' = 1,93$), durante a exposição a banda 03 apresentou maior potência do grupo MUS_EVO para o CTL_EVO ($t(8) = 2,55$, $p = 0,03$, $d' = 1,62$).

Para o núcleo do córtex lateral durante a ambientação, foi observado aumento da potência do grupo MUS para o CTL_EVO na banda 01 com diferença significativa ($t(8) = 2,43$, $p = 0,04$, $d' = 1,54$), durante a exposição não houve diferença entre CTL_EVO e MUS_EVO.

Por fim, o grupo MUS_EVO parece conflitar o resultado da densidade de potência da evocação quando associamos à resposta observada na análise funcional. Porque a análise de densidade de potência mostrou a capacidade desses animais de rerepresentarem o potencial evocado do treino para o teste.

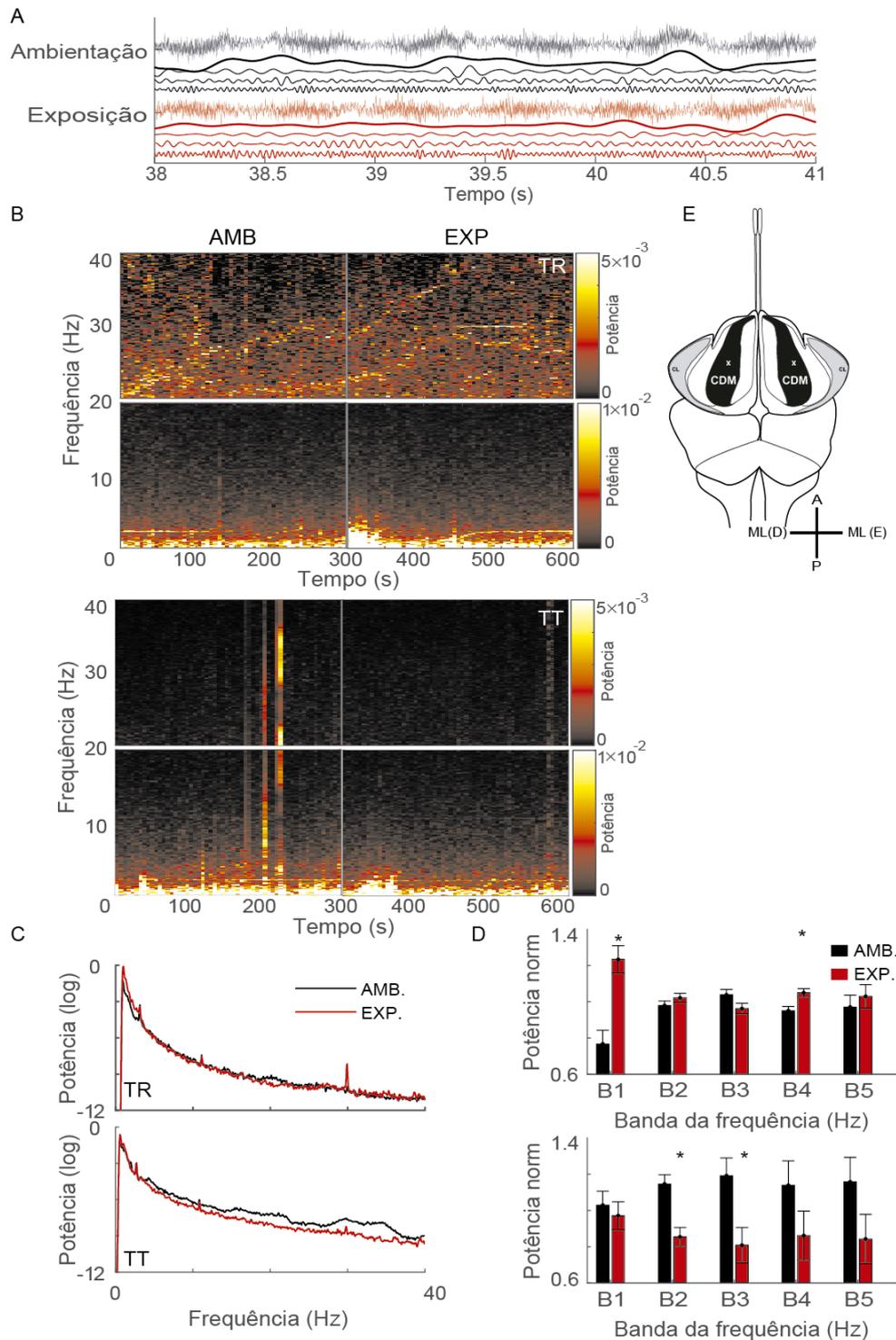


Figura 18 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de aquisição de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CDM (em preto). O grupo controle apresenta características adquiridas no treino durante o processo de aquisição de memória que é observada através da reprodução no teste. Foi utilizado teste t para as comparações.

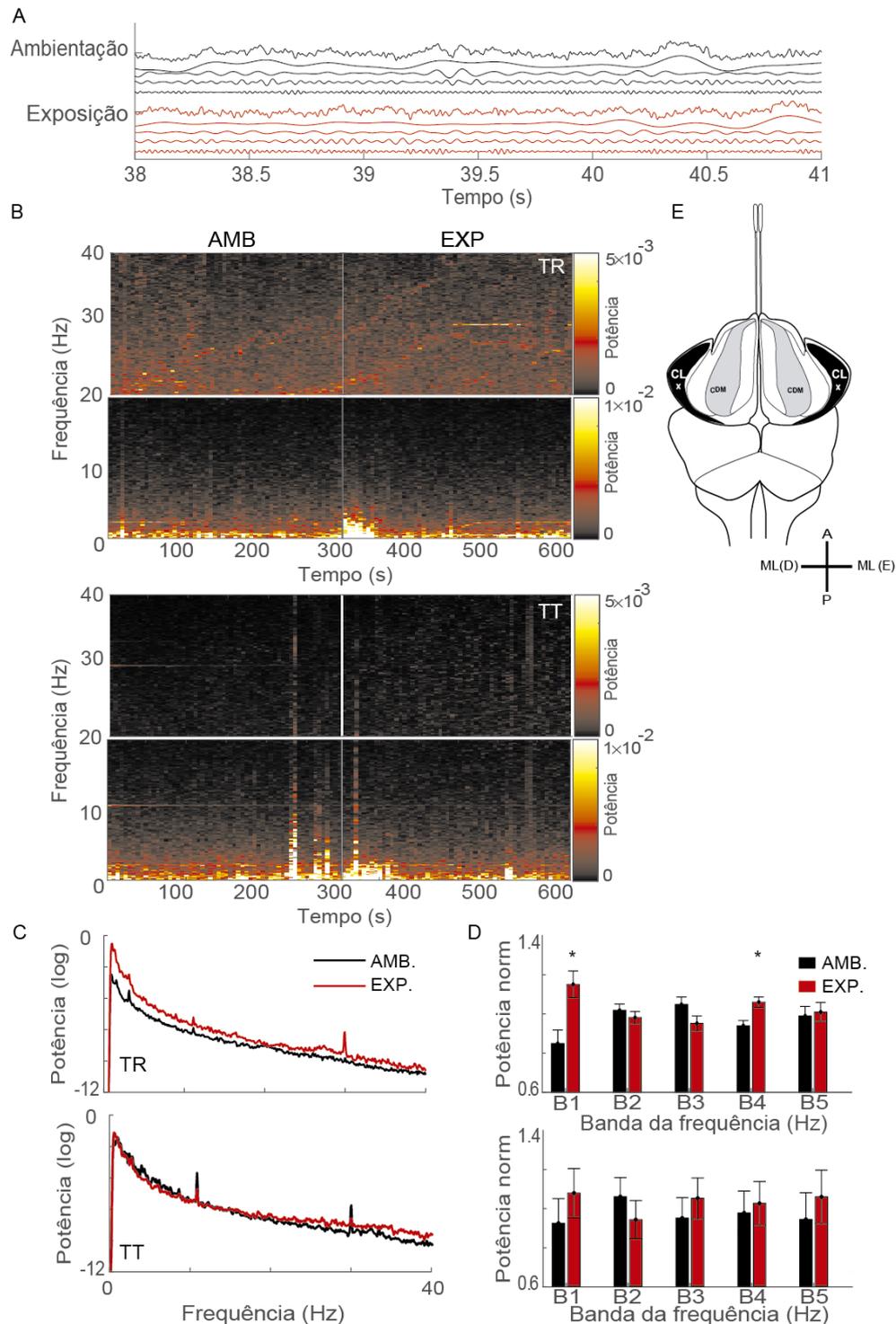


Figura 19 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), durante o processo de aquisição de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex lateral (CL - em preto). O grupo controle apresenta características adquiridas no treino durante o processo de aquisição de memória que é observada através da reprodução no teste. Foi utilizado teste t para as comparações par a par.

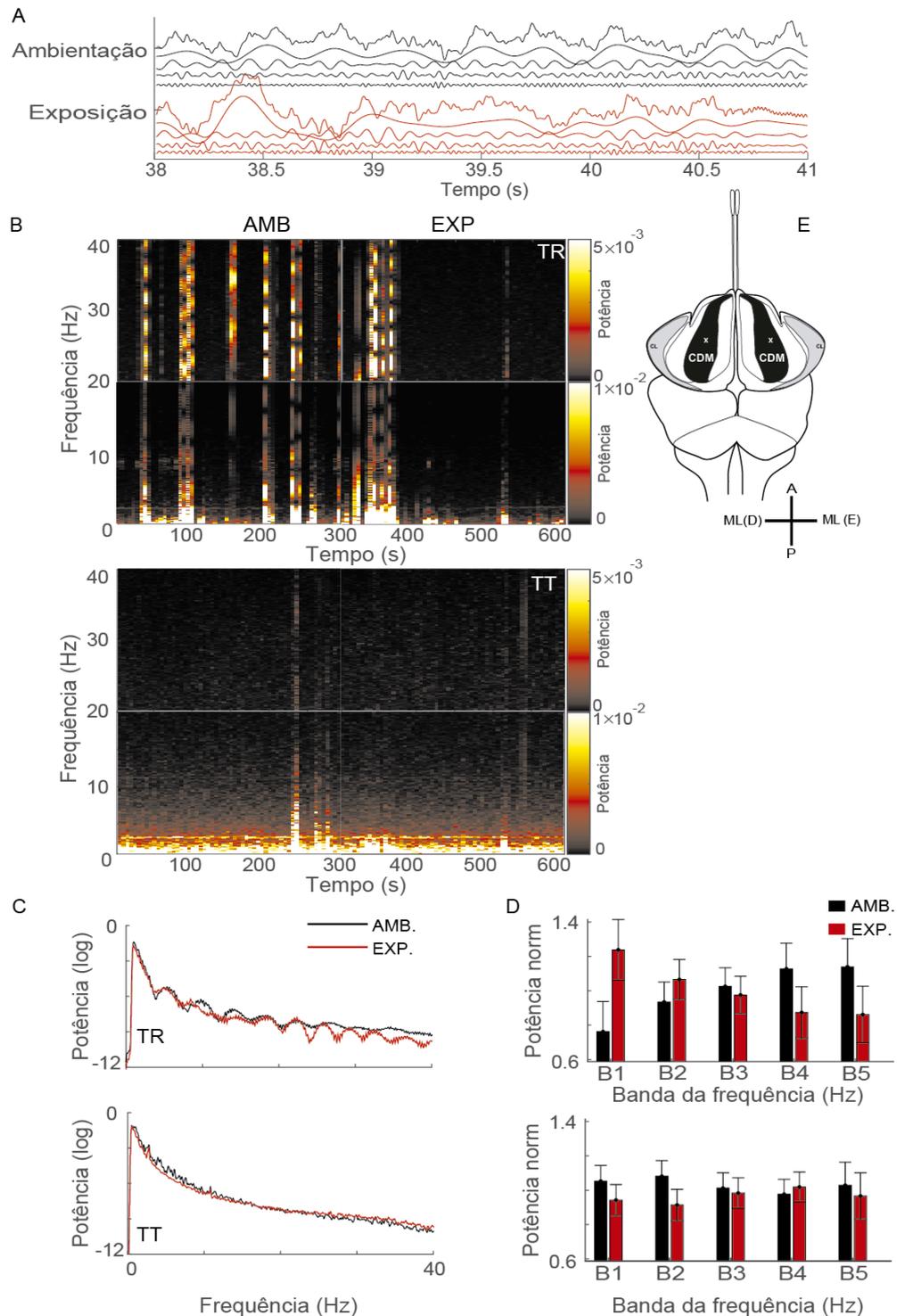


Figura 20 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de aquisição de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex dorsomedial (CDM - em preto). O grupo musculol não apresenta alterações significativas da potência durante a aquisição, em que é observado prejuízo de função através da não correspondência eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações par a par.

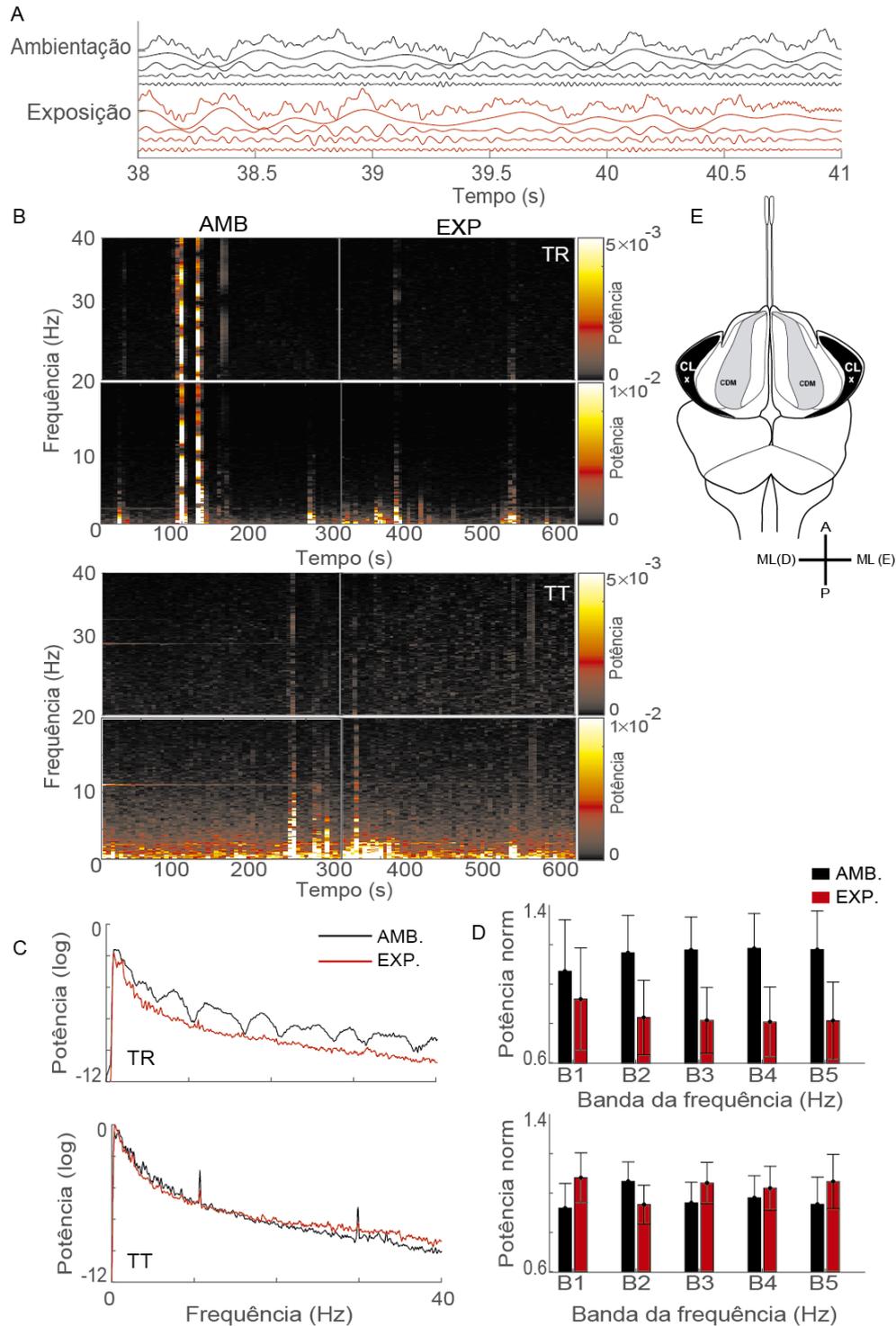


Figura 21 - Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculol (MUS) para o córtex lateral (CL), durante o processo de aquisição de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex lateral (CL - em preto). O grupo musculol apresenta prejuízo durante a aquisição que é observada através da não correspondência da análise eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações.

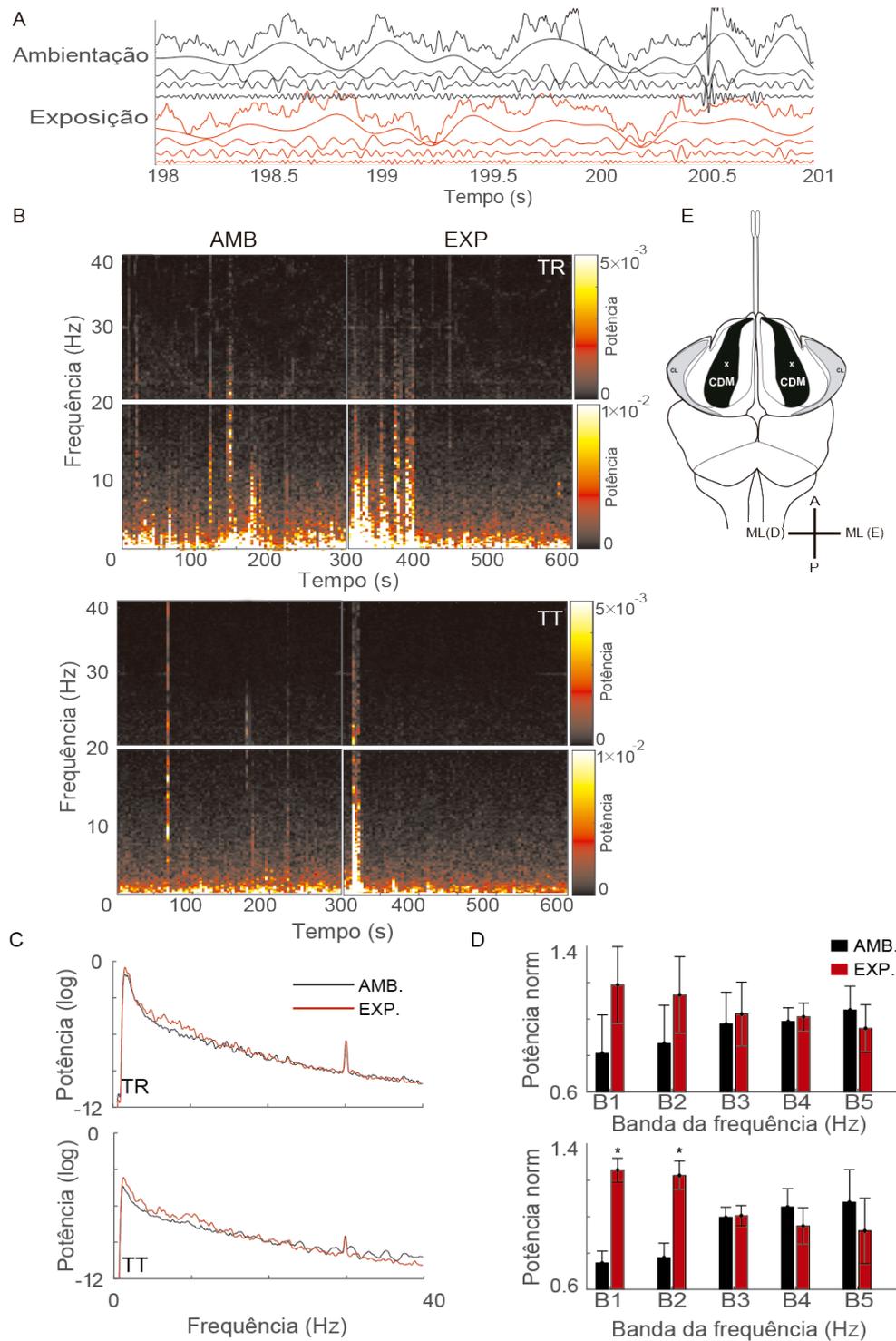


Figura 22 - Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de consolidação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CDM (em preto). Observa-se uma reprodução de características percebidas do grupo controle, do treino para o teste, durante a consolidação, com correspondência da análise eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações.

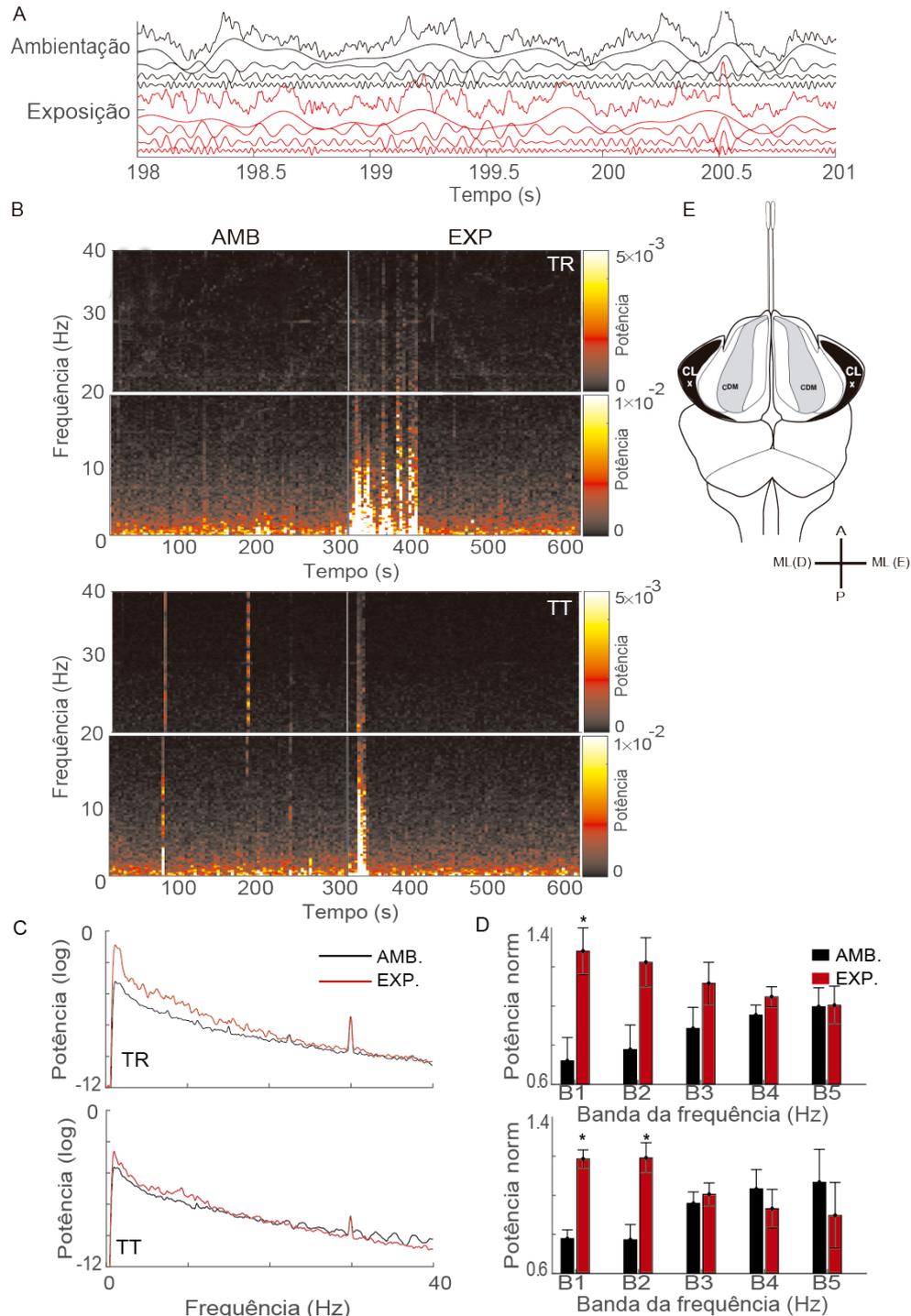


Figura 23 - Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), no processo de consolidação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex lateral (CL - em preto). Observa-se uma reprodução de características percebidas no grupo controle, do treino para o teste, para a consolidação, com correspondência da análise eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações.

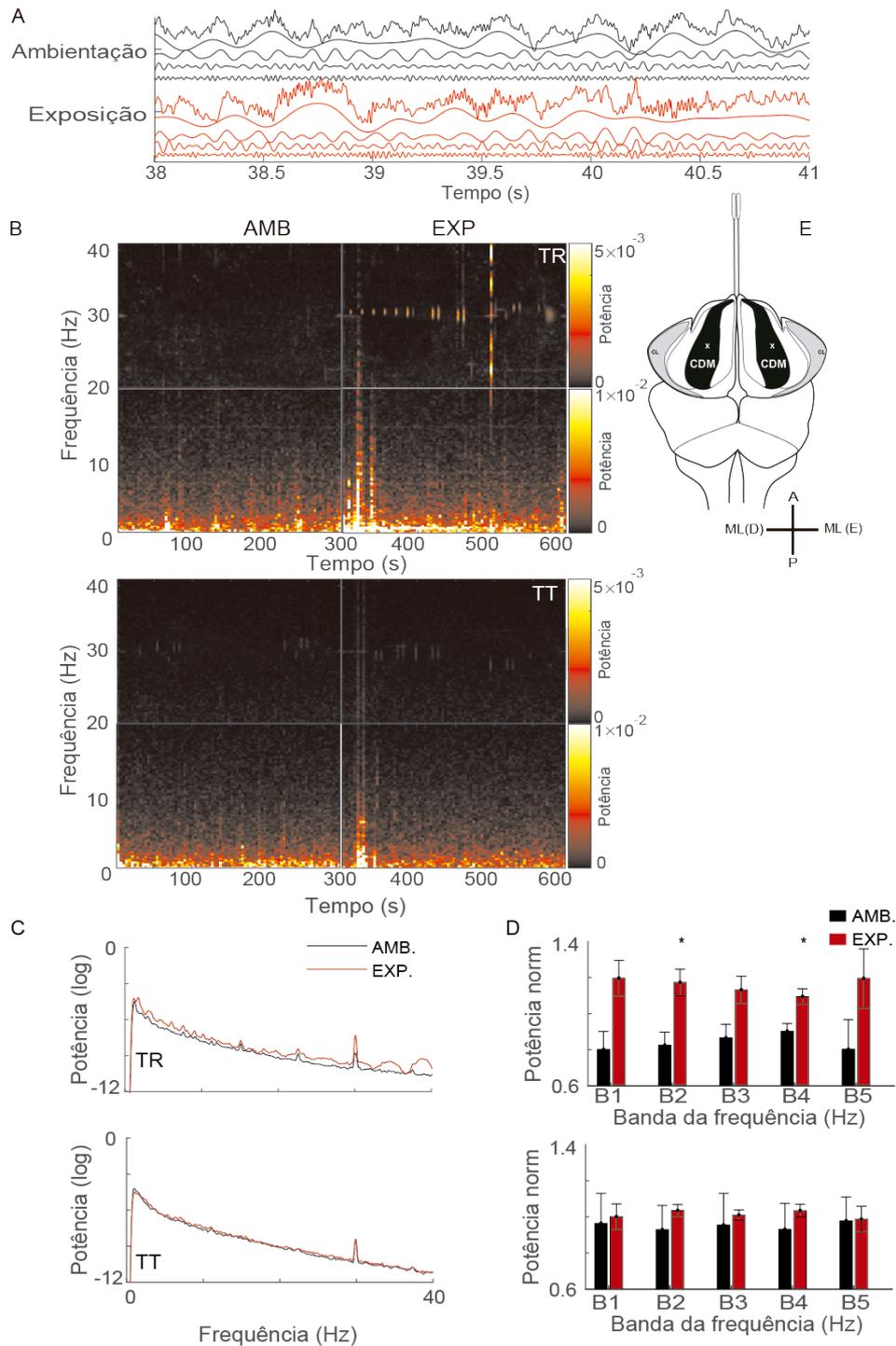


Figura 24 - Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de consolidação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex dorsomedial (CDM - em preto). Observa-se uma reprodução de características percebidas no grupo musculol, do treino para o teste, para a consolidação, com correspondência da análise eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações.

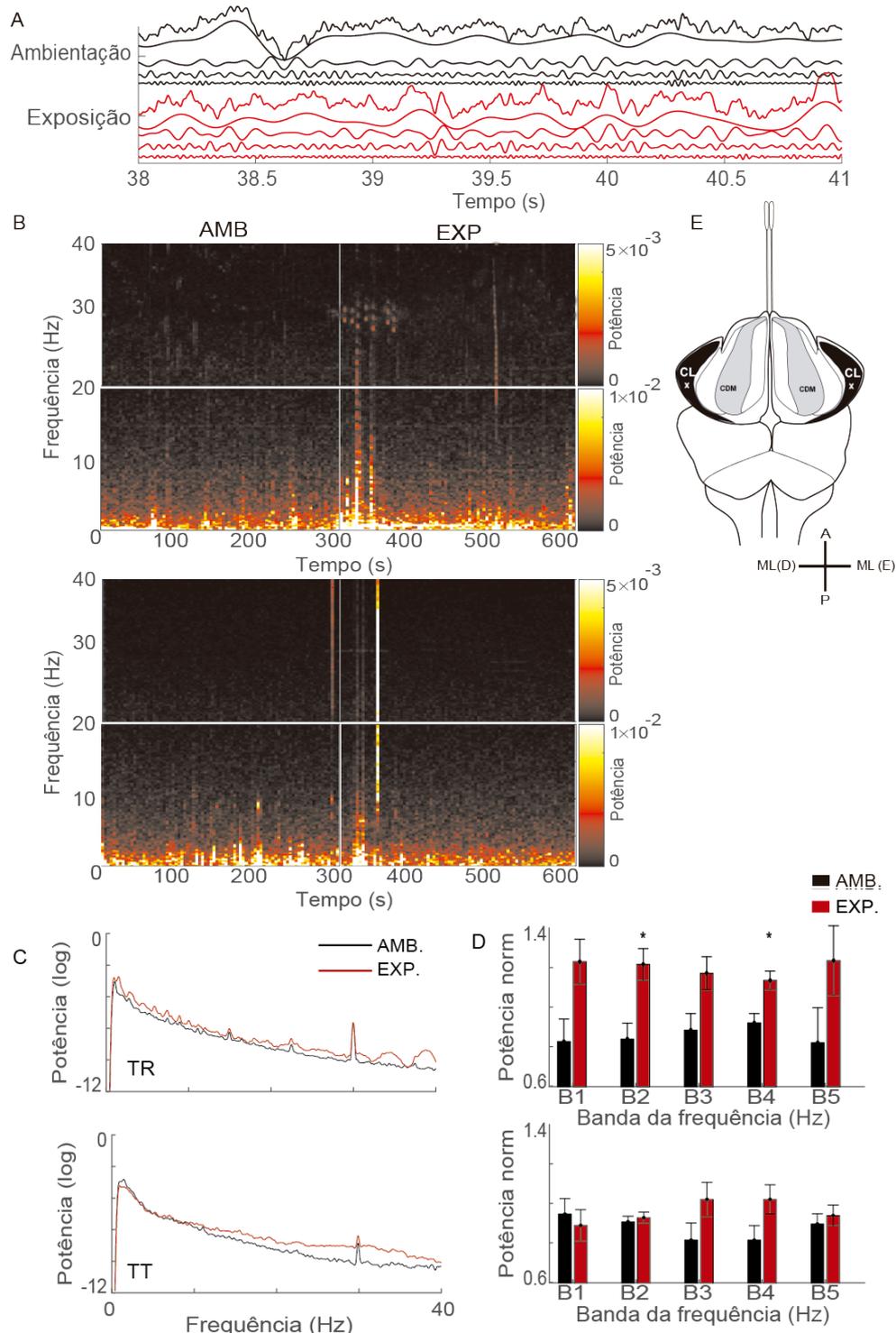


Figura 25 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculol (MUS) para o córtex lateral (CL), durante o processo de consolidação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do córtex lateral (CL - em preto). Observa-se uma reprodução de características percebidas do grupo musculol, do treino para o teste, para a consolidação, com correspondência da análise eletrofisiológica no domínio da frequência. Foi utilizado teste t para as comparações.

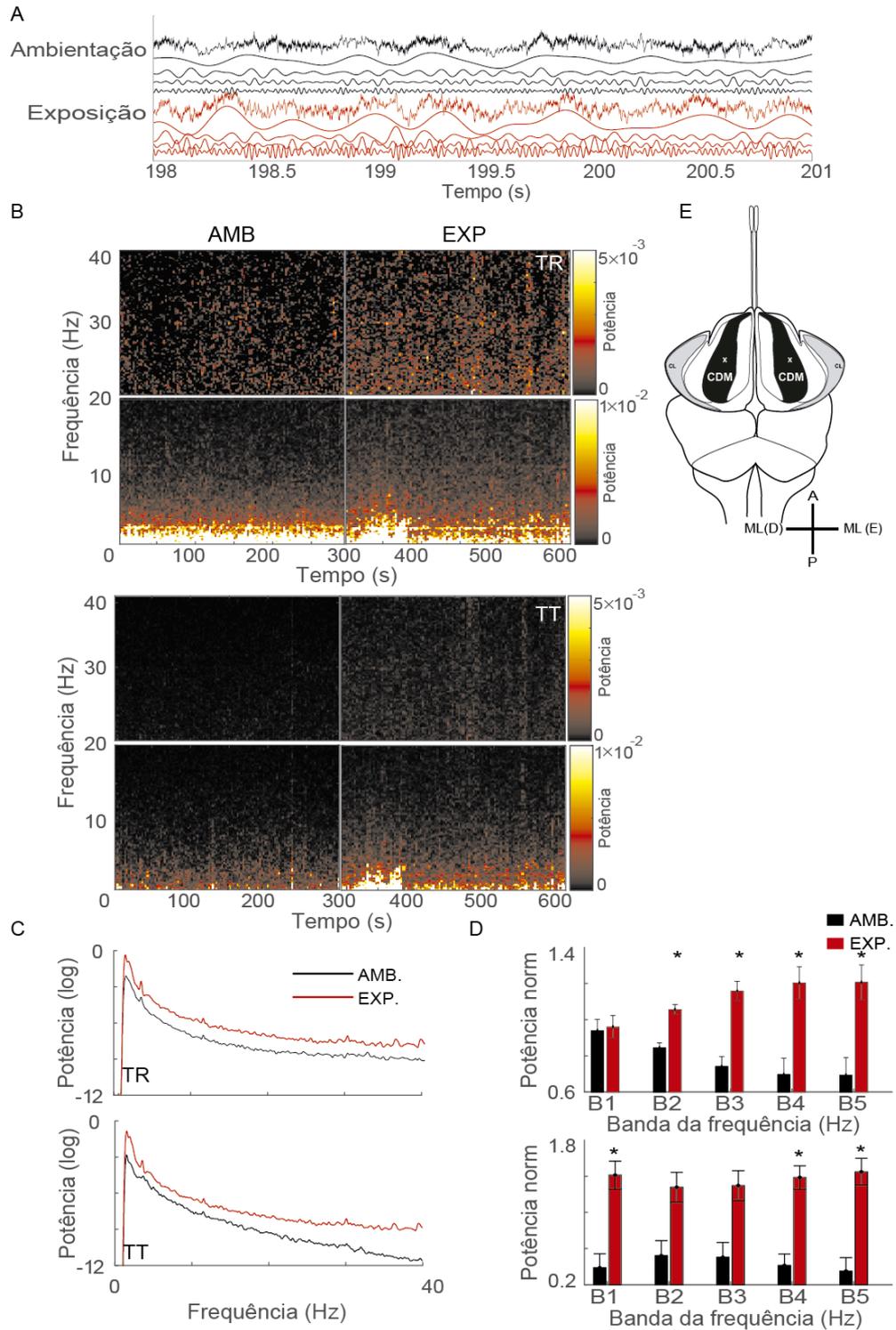


Figura 26 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex dorsomedial (CDM), durante o processo de evocação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CDM (em preto). Para o grupo controle foram observadas características reproduzidas do treino para o teste no processo de evocação. Foi utilizado teste t para as comparações.

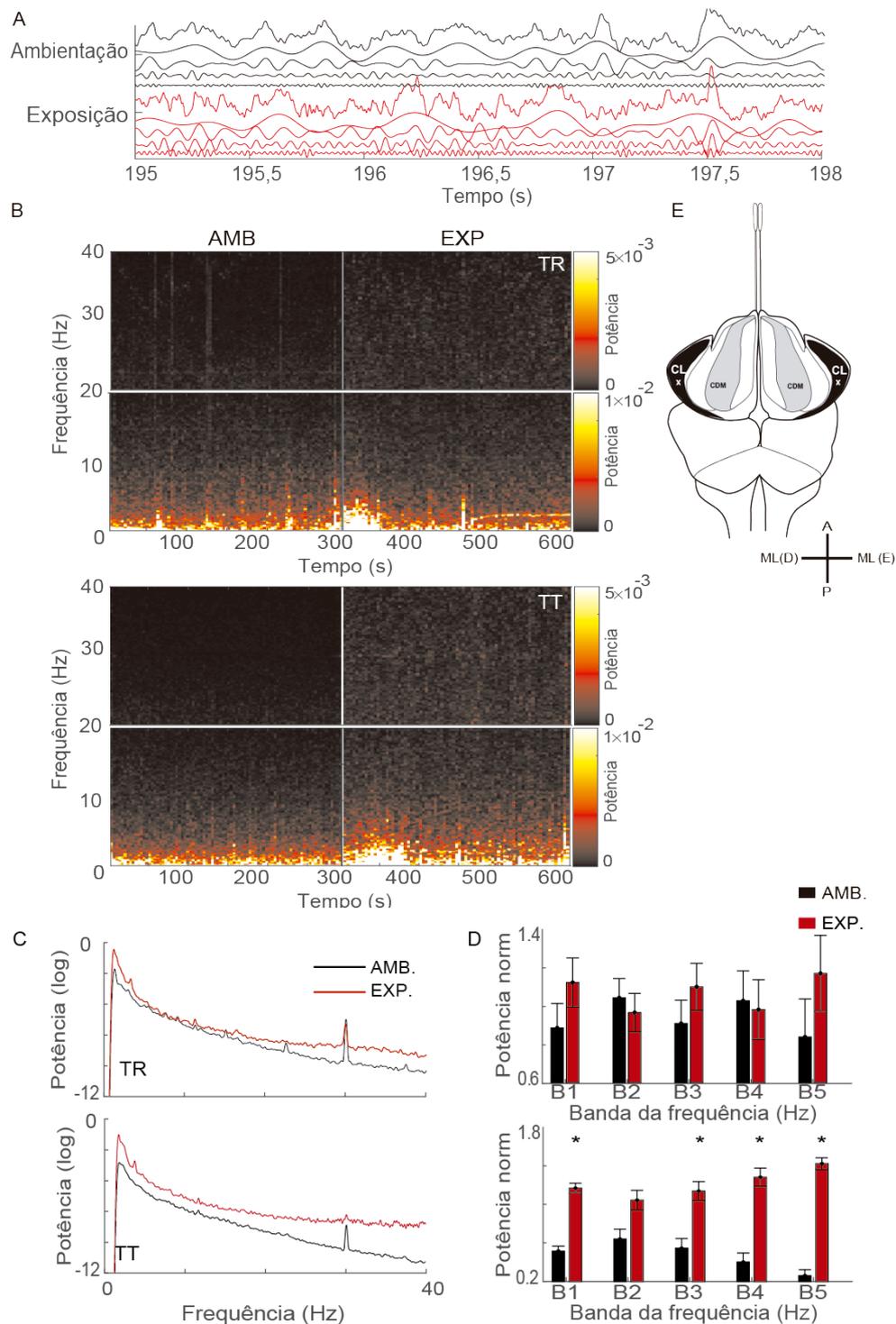


Figura 27 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo controle (CTL) para o córtex lateral (CL), durante o processo de consolidação da memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CL (em preto). Para o grupo controle foram observadas características reproduzidas do treino para o teste no processo de evocação. Foi utilizado teste t para as comparações.

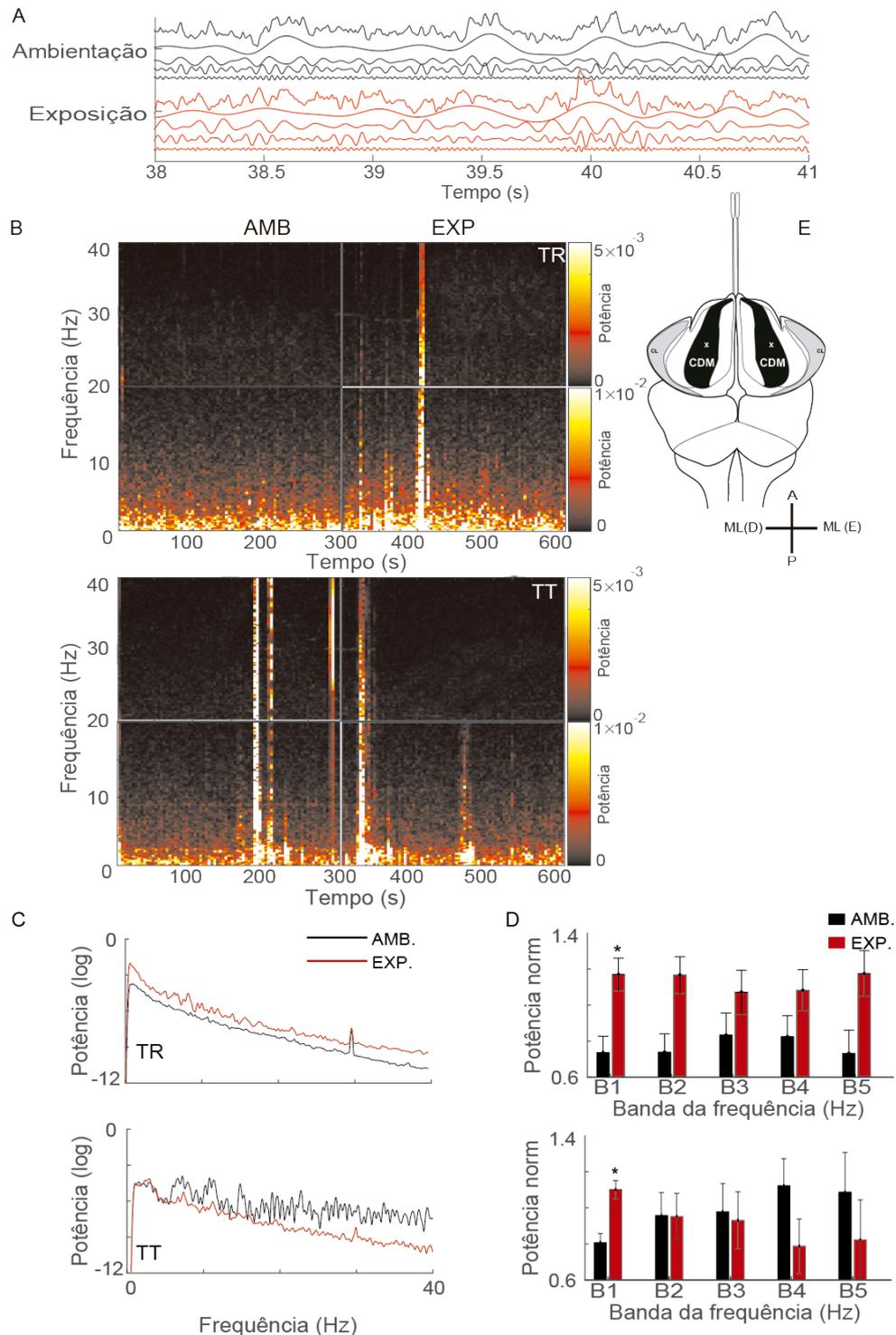


Figura 28 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculol (MUS) para o córtex dorsomedial (CDM), no processo de evocação da memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CDM (em preto). Não foram observados prejuízos do grupo musculol durante a evocação, quando avaliamos a atividade reproduzidas das bandas de frequência, no seu domínio. Foi utilizado teste t para as comparações.

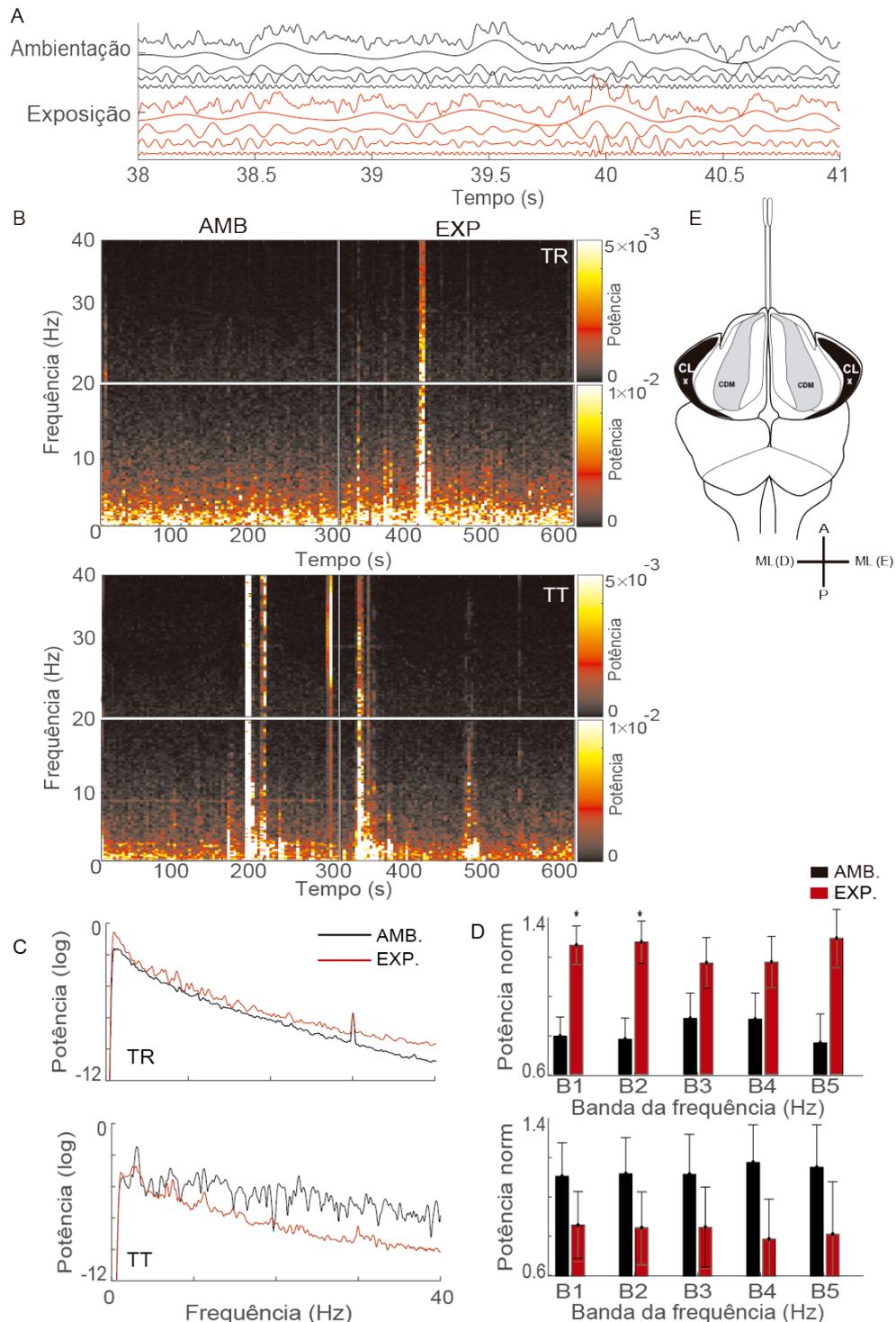


Figura 29 – Avaliação do espectro de densidade de potência do grupo musculocortical (MUS) para o córtex lateral (CL), no processo de evocação da memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto e das bandas presentes para ambientação (AMB) e exposição (EXP). Em B, o espectrograma está dividido entre bandas de frequências: 0-20 Hz e 20-40 Hz de acordo com a potência e ocorrência ao longo do tempo. Em C, a densidade do espectro de potência foi normalizada para evidenciar melhor os picos de atividade das bandas de frequências durante o treino (TR) e teste (TT). Em D, temos a comparação entre as bandas de 01 a 05 (B1, B2, B3, B4 e B5) para AMB vs. EXP. Em E, apresentação do encéfalo com marcação do núcleo do córtex telencefálico reptiliano na região do CL (em preto). Não foram observados prejuízos do grupo musculocortical durante a evocação, quando avaliamos a atividade reproduzidas das bandas de frequência, no seu domínio. Foi utilizado teste t para as comparações.

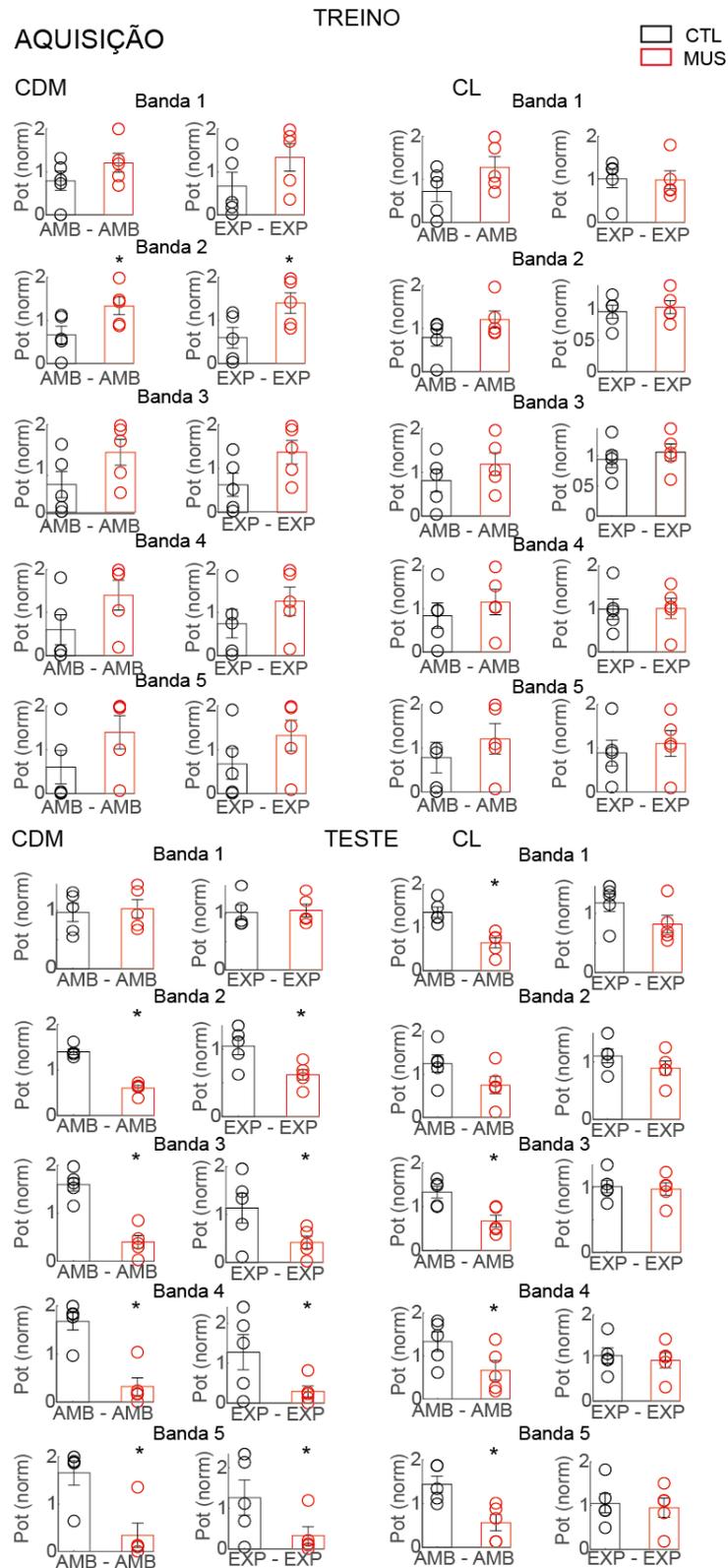


Figura 30 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e musculol (MUS), durante o processo de aquisição. Treino a esquerda e Teste a direita, comparamos a potência do grupo controle (CTL) e musculol (MUS) para as bandas 01 a 05, comparativamente AMB vs. AMB e EXP vs. EXP, tanto para o núcleo do córtex dorsomedial (CDM) e córtex lateral (CL). Valores significativos * $p < 0,05$. Percebe-se que durante o treino o grupo MUS tem potências maiores do que o grupo CTL e o inverso é observado no teste. Foi utilizado teste t para as comparações.

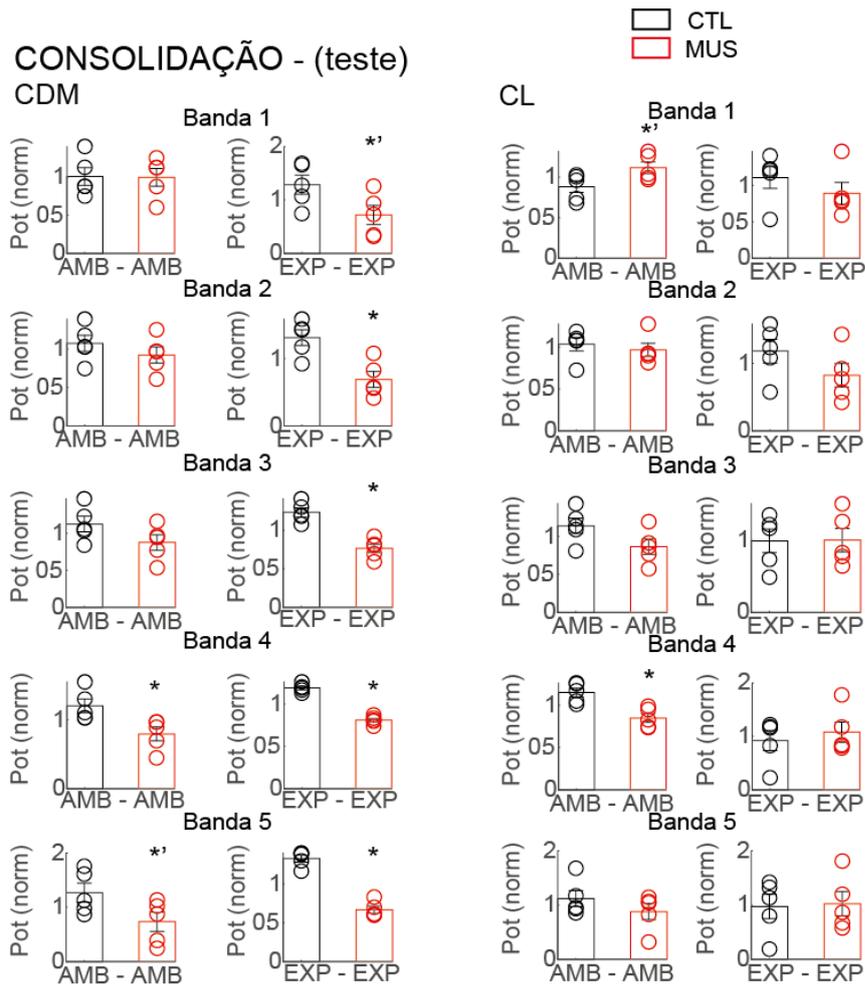


Figura 31 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), durante o processo de consolidação. Apenas para o teste, comparamos a potência do grupo controle (CTL) e muscimol (MUS) para as bandas 01 a 05, comparativamente AMB vs. AMB e EXP vs. EXP, tanto para o núcleo do córtex dorsomedial (CDM) e córtex lateral (CL). Valores significativos * $p < 0,05$, *' marginalmente significativos $p \leq 0,06$. Para a consolidação observamos que do grupo MUS para o CTL durante o teste, para o CDM apresentou menor potência durante a exposição, já para o CL não foi observada diferença. Foi utilizado teste t para as comparações.

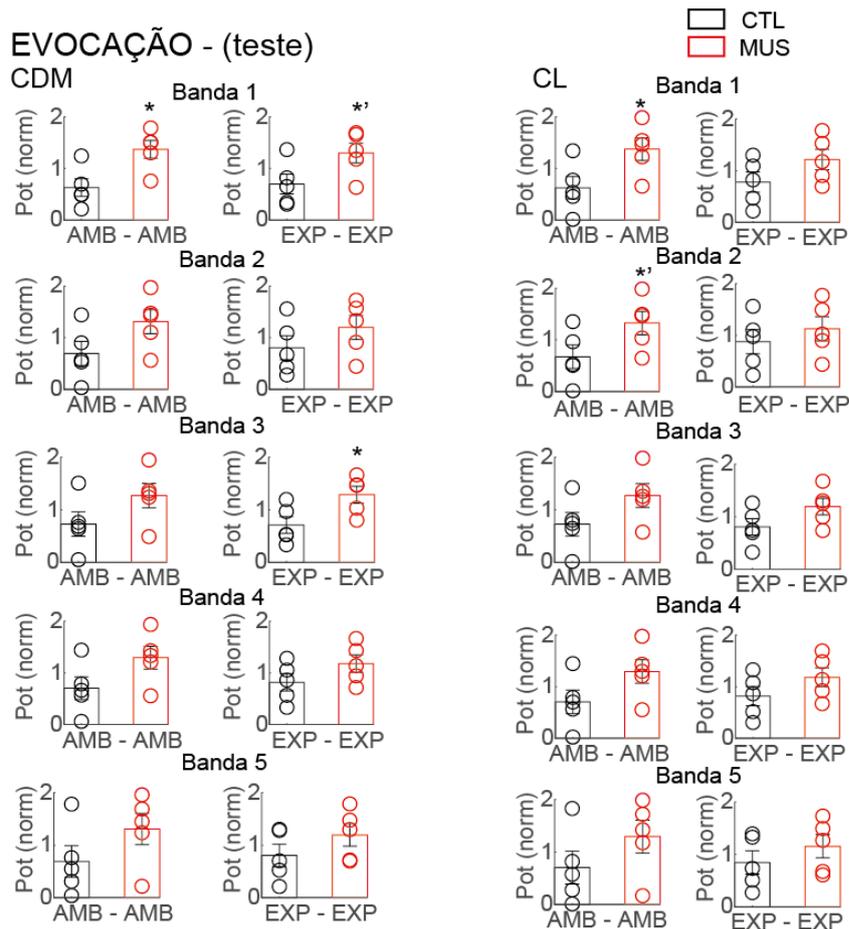


Figura 32 – Avaliação comparativa entre grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), durante o processo de evocação. Apenas para o teste, comparamos a potência do grupo controle (CTL) e muscimol (MUS) para as bandas 01 a 05, comparativamente AMB vs. AMB e EXP vs. EXP, tanto para o núcleo córtex dorsomedial (CDM) e córtex lateral (CL). Valores significativos * $p < 0,05$, *' marginalmente significativos $p \leq 0,06$. Para a evocação observamos que o grupo MUS durante o teste, para o CDM apresentou menor potência durante a exposição, já para o CL, não foi observada diferenças. Foi utilizado teste t para as comparações.

Em resumo apresentamos a tabela que indica se houve aumento (+), redução (-) ou neutralidade (0) entre as fases de ambientação e exposição, para o treino e teste e para os grupos CTL e MUS nos processos de aquisição, consolidação e evocação. Esses dados nos ajudam a entender que para o parâmetro da potência, o maior prejuízo está associado ao processo de aquisição de memória aversiva, pois foi nesse passo que se observa a maior quantidade de prejuízos acumulados.

Tabela 3: Resumo dos resultados através da análise do espectro de potência

Potência Grupo	Treino		Teste		Processo mnemônico
	Ambientação	Exposição	Ambientação	Exposição	
CTL_AQ	-	+	+	-	Aquisição
MUS_AQ	0	0	0	0	
CTL_CON	-	+	-	+	Consolidação
MUS_CON	-	+	-	+	
CTL_EVO	-	+	-	+	Evocação

MUS_EVO

- + + -

Nota: Grupo Controle: na aquisição (CTL_AQ), consolidação (CTL_CON), evocação (CTL_EVO), Grupo Muscimol: na aquisição (MUS_AQ), consolidação (MUS_CON), evocação (MUS_EVO); no treino e teste na fase de ambientação e exposição.

5.5 Coerência de sinal

A coerência do sinal foi avaliada entre os núcleos córtex dorsomedial e lateral com base na avaliação das frequências através do valor de potência do estimador de periodização teoria da comunicação através da coerência. Além disso, foi avaliado através do valor de fase de frequência (VFF) entre os núcleos para cada grupo para os três processos estudados: aquisição (Figura 33), consolidação (Figura 34) e evocação (Figura 35).

5.5.1 Coerência para o Grupo CTL

Para a aquisição, os núcleos do córtex dorsomedial e lateral apresentaram alta coerência durante toda a atividade, aumentando durante o processo de exposição ao estímulo aversivo, assim, foi observado uma coerência média durante o treino de 0,92 e durante o teste de 0,31, e apontou sobre a faixa de frequências (0:0,07:50) que durante o treino em todos os animais do grupo controle foi maior do que no teste ($t(683) = 78,65$, $p < 0,001$). Para a consolidação, a coerência média no treino foi de 0,76 e no teste de 0,8 ($t(683) = 12,43$, $p < 0,001$). Para a evocação, a coerência média no treino foi de 0,72 e no teste de 0,42 ($t(683) = 62,08$, $p < 0,001$). A coerência de atividade para o grupo controle nos mostra a participação ativa da comunicação direta entre os núcleos durante a exposição aversiva ao gato, no entanto, ela é reduzida numa reexposição sem a presença do estímulo aversivo.

5.5.2 Coerência para o Grupo MUS

Para a aquisição, os núcleos do dorsomedial e lateral apresentaram alta coerência durante toda a atividade, aumentando durante o processo de exposição ao estímulo aversivo. Foi observado uma coerência baixa durante o treino de 0,01 e média durante o teste de 0,49, comparativamente o treino para o grupo MUS obteve menor coerência do que no teste ($t(683) = 174,94$, $p < 0,001$). Para a consolidação, a coerência média no treino foi de 0,96 e no teste de 0,5, o que aponta uma redução da coerência ($t(683) = 43,71$, $p < 0,001$), inversamente à aquisição, mas muito semelhante com os resultados do grupo controle. Para a evocação, a coerência média no treino foi de 0,94 e no teste de 0,4, o que aponta uma redução da coerência

também ($t(683) = 64,08, p < 0,001$). Com a coerência de atividade reduzida no grupo MUS durante a aquisição, podemos perceber que a dependência da comunicação através da coerência do CL para o CDM é prejudicada e traz prejuízos quanto à aquisição da informação. Quando seguir ao próximo tópico de avaliação de fase, percebe-se que na aquisição o grupo MUS tem um padrão de comunicação com valores de coerência reduzidos, o que torna aleatórias as ocorrências de associação de fase-fase que está associada à indução de atividade do córtex lateral ao dorsomedial.

5.5.3 Coerência entre as fases dos núcleos

O teste reporta que há efeito de grupo ($F(2,24) = 94,15, p < 0,001, \sigma = 0,89$) ao comparar os valores de coerência para delta-beta. O grupo MUS_AQ apresenta o menor valor de coerência em delta-beta comparado aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 4.

Tabela 4 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\beta$)

Pós-TT entre os grupos - VFF: $\delta-\beta$	t	gl	p
CTL TR EXP - MUS_CON TR EXP	-11.46	24	7,37E-09
MUS_AQ TR EXP - MUS_CON TR EXP	-10.03	24	1,02E-07
MUS_CON TR EXP - MUS_EVO TR EXP	12.23	24	1,93E-09
MUS_CON TR EXP - MUS_EVO TT EXP	11.86	24	3,62E-09
MUS_AQ TT EXP - MUS_CON TR EXP	-9.07	24	6,91E-07
MUS_CON TT EXP - MUS_CON TR EXP	-26.40	24	2,11E-14

Nota: siglas – delta (δ), beta (β), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), EXP (exposição). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo pós-teste de Bonferroni.

Para os valores de coerência para delta-gama_(baixa) reporta efeito de grupo ($F(2,24) = 150,71, p < 0,001, \sigma = 0,92$) ao comparar os valores de coerência para delta-gama_(baixa). O grupo MUS_AQ também apresenta o menor valor de coerência comparado aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 5.

Tabela 5 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\gamma_m$)

Pós-TT entre os grupos – VFF: $\delta-\gamma_m$	t	gl	p
CTL_AQ TR EXP - MUS_CON TR EXP	-9.94	24	1.22E-07
CTL_AQ TT EXP - MUS_CON TR EXP	-8.01	24	6.40E-06
MUS_AQ TR AMB – MUS_CON TR EXP	-6.60	24	1.50E-04

MUS_AQ TT AMB – MUS_AQ TT EXP	-7.02	24	5.72E-05
MUS_AQ TT EXP – MUS_CON TR EXP	-6.26	24	3.32E-04
MUS_AQ TR EXP – MUS_CON TR EXP	-8.27	24	3.69E-06
MUS_CON TR AMB – MUS_CON TR EXP	-31.72	24	2.10E-14
MUS_CON TT EXP – MUS_CON TR EXP	-33.31	24	2.10E-14
CTL TR EXP - MUS_AQ TR EXP	-10.31	24	5.98E-08
MUS_CON TR EXP – MUS_EVO TT EXP	8.65	24	1.63E-06

Nota: siglas – delta (δ), gama baixa (γ_m), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), ambientação (AMB), exposição (EXP). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo pós-teste de Bonferroni.

Para os valores de coerência para delta-gama_(alta) foi reportado efeito de grupo ($F(2,24) = 94,79, p < 0,001, \sigma = 0,89$) ao comparar os valores de coerência para delta-gama_(alta). O grupo MUS_AQ também apresentou o menor valor de coerência em delta-gama_(alta) comparado aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 6.

Tabela 6 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\delta-\gamma_M$)

Pós-TT entre os grupos – VFF: $\delta-\gamma_M$	t	gl	p
MUS_AQ TR AMB – MUS_AQ TR EXP	-4.60	24	3.19E-02
MUS_AQ TT EXP – MUS_CON TR EXP	-4.99	24	1.19E-02
MUS_CON TR AMB – MUS_CON TR EXP	-63.51	24	8.17E-26
MUS_CON TT EXP – MUS_CON TR EXP	-21.21	24	1.30E-14
MUS_CON TR EXP – CTL TT EXP	6.76	24	1.50E-04
MUS_CON TR EXP – MUS_EVO TT EXP	6.76	24	1.49E-04
MUS_CON TR EXP – MUS_EVO TR EXP	5.68	24	2.10E-03

Nota: siglas – delta (δ), gama alta (γ_M), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), ambientação (AMB), exposição (EXP). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo pós-teste de Bonferroni.

Para os valores de coerência para teta-beta o teste reporta efeito de grupo ($F(2,24) = 22,39, p < 0,001, \sigma = 0,65$) ao comparar os valores de coerência para teta-beta. O grupo controle durante o teste apresenta o maior valor de coerência em teta-beta comparado aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 7.

Tabela 7 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\beta$)

Pós-TT entre os grupos – VFFF: $\theta-\beta$	t	gl	p
CTL TT AMB - CTL TT EXP	-12.23	24	1.92E-09
CTL TT EXP - CTL TR EXP	12.08	24	2.49E-09
CTL TT EXP - MUS_AQ TT EXP	4.64	24	1.43E-02
CTL TT EXP - MUS_EVO TT EXP	4.64	24	1.43E-02

CTL TT EXP - MUS_CON TR EXP	5.26	24	3.43E-03
CTL TT EXP - MUS_EVO TR EXP	5.26	24	3.43E-03
CTL TR EXP - CTL TT EXP	-5.15	24	4.50E-03
MUS_CON TT AMB – CTL TT EXP	-5.12	24	4.81E-03
MUS_CON TR AMB – CTL TT EXP	-4.66	24	1.38E-02

Nota: siglas – teta (θ), beta (β), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), ambientação (AMB), exposição (EXP). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo pós-teste de Bonferroni.

Para os valores de coerência para teta-gama_(baixa) o teste apontou efeito de grupo ($F(2,24) = 44,36, p < 0,001, \sigma = 0,79$) ao comparar os valores de coerência para teta- gama_(baixa). O grupo controle durante o teste apresenta o maior valor em teta- gama_(baixa) comparado aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 8.

Tabela 8 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\gamma_m$)

Pós-teste entre os grupos – VFFF: $\theta-\gamma_m$	t	gl	p
CTL TT AMB - CTL TT EXP	-19.87	24	5.73E-14
MUS_CON TT AMB – CTL TT EXP	-6.00	24	9.31E-04
CTL TR AMB – CTL TT EXP	-22.36	24	3.88E-15
CTL TT EXP – MUS_CON TT EXP	5.27	24	5.82E-03
CTL TT EXP - CTL TR EXP	24.96	24	3.08E-16
CTL TT EXP – MUS TT EXP	5.27	24	5.83E-03
CTL TT EXP – MUS TR EXP	5.44	24	3.81E-03

Nota: siglas – teta (θ), gama baixa (γ_m), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), ambientação (AMB), exposição (EXP). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo método de Bonferroni.

Para os valores de coerência para teta-gama_(alta) observamos efeito de grupo ($F(2,24) = 167,03, p < 0,001, \sigma = 0,93$) ao comparar os valores de coerência para teta-gama_(alta). O grupo controle durante o teste apresentou o maior valor de coerência para teta-gama_(alta) em comparação aos outros grupos. Apresentamos as principais diferenças na análise de pós-teste de bonferroni na Tabela 9.

Tabela 9 – Avaliação de pós-teste entre/intra grupo CTL e MUS (VFF: $\theta-\gamma_M$)

Pós-TT entre os grupos - VFFF: $\theta-\gamma_M$	t.razão	gl	p-valor
MUS TT EXP AQUISICAO - CTL TT EXP CONSOLIDACAO	-6.52	24	2.64E-04
CTL TT AMB CONSOLIDACAO - CTL TT EXP CONSOLIDACAO	-28.51	24	1.39E-17
CTL TT EXP CONSOLIDACAO - MUS TT EXP CONSOLIDACAO	8.28	24	4.71E-06
CTL TT EXP CONSOLIDACAO - CTL TR EXP CONSOLIDACAO	31.38	24	1.48E-18
CTL TT EXP - CTL TT AMB	7.92	24	1.05E-05

CTL TT EXP - MUS_EVO TT AMB	7.92	24	1.05E-05
CTL TT EXP - MUS_EVO TT EXP	8.28	24	4.72E-06

Nota: siglas – teta (θ), alta (γM), grupo controle (CTL), grupo muscimol (MUS), treino (TR), teste (TT), ambientação (AMB), exposição (EXP). Valor de p corrigido pelo número de comparação (gl) pelo método de Bonferroni.

Esse resultado revela uma não centralização do índice de modulação de fase para o grupo MUS durante a aquisição, o que o torna diferente do padrão observado durante a consolidação e evocação. Durante a consolidação, o grupo MUS que não sofria efeito direto da infusão farmacológica, foi o grupo que apresentou maior atividade coerência comparados aos grupos aquisição e evocação. O grupo MUS na evocação foi o que apresentou menor atividade de coerência de fase entre aquisição e consolidação, mas entre ambientação e evocação seguiu o padrão de aumento, que foi observado no grupo controle.

Em resumo apresentamos a Tabela 10, que indica se houve aumento (+), redução (-) ou neutralidade (0) entre as fases de ambientação e exposição, para o treino e teste e para os grupos nos processos de aquisição, consolidação e evocação. Esses dados nos ajudam a entender que para o parâmetro da coerência e valor de VFF, o maior prejuízo está associado ao processo de aquisição de memória aversiva, pois foi nesse passo que se observa a maior quantidade de prejuízos acumulados.

Tabela 10: Resumo dos resultados acerca da coerência e valor de VFF

Grupo	Treino		Teste		Processo mnemônico
	Ambientação	Exposição	Ambientação	Exposição	
CTL_AQ	+	+	+	+	Aquisição
MUS_AQ	-	-	-	-	
CTL_CON	+	+	+	+	Consolidação
MUS_CON	+	+	-	-	
CTL_EVO	+	+	+	+	Evocação
MUS_EVO	+	+	-	-	

Nota: Grupo Controle: na aquisição (CTL_AQ), consolidação (CTL_CON), evocação (CTL_EVO), Grupo Muscimol: na aquisição (MUS_AQ), consolidação (MUS_CON), evocação (MUS_EVO); no treino e teste nas condições de ambientação e exposição.

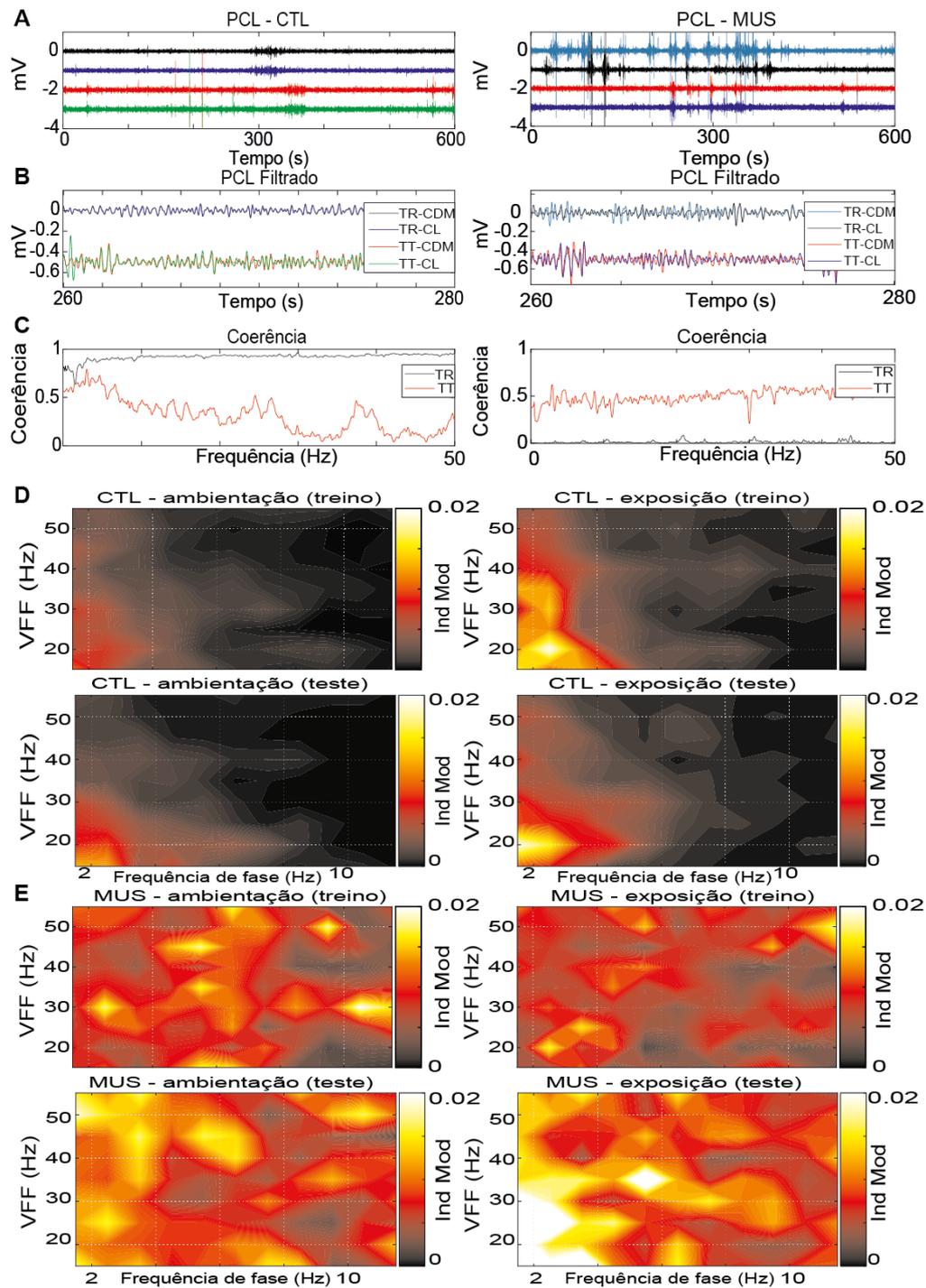


Figura 33 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de aquisição de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto do potencial de campo local (PCL) do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) em treino e teste. Em B, o sinal de CDM e CL foi sobreposto e separado entre treino (TR) e teste (TT) para confirmar a coerência em C. Em C, a força da coerência está apresentada para as frequências de 1 – 50 Hz. Em D e E, apresentado o índice de modulação (Ind Mod) do valor de frequência de fase (VFF) para o grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), em que avaliamos a capacidade do córtex lateral induzir padrão de banda de frequência no córtex dorsomedial, respectivamente. A escala de cor das figuras D e E indica uma escala de calor. Os dados expressão como a comunicação entre os núcleos do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) estava durante o processo de aquisição de memória aversiva, no grupo MUS não é observada coerência do sinal entre TR e TT, além de não haver uma centralização do VFF comparada ao controle.

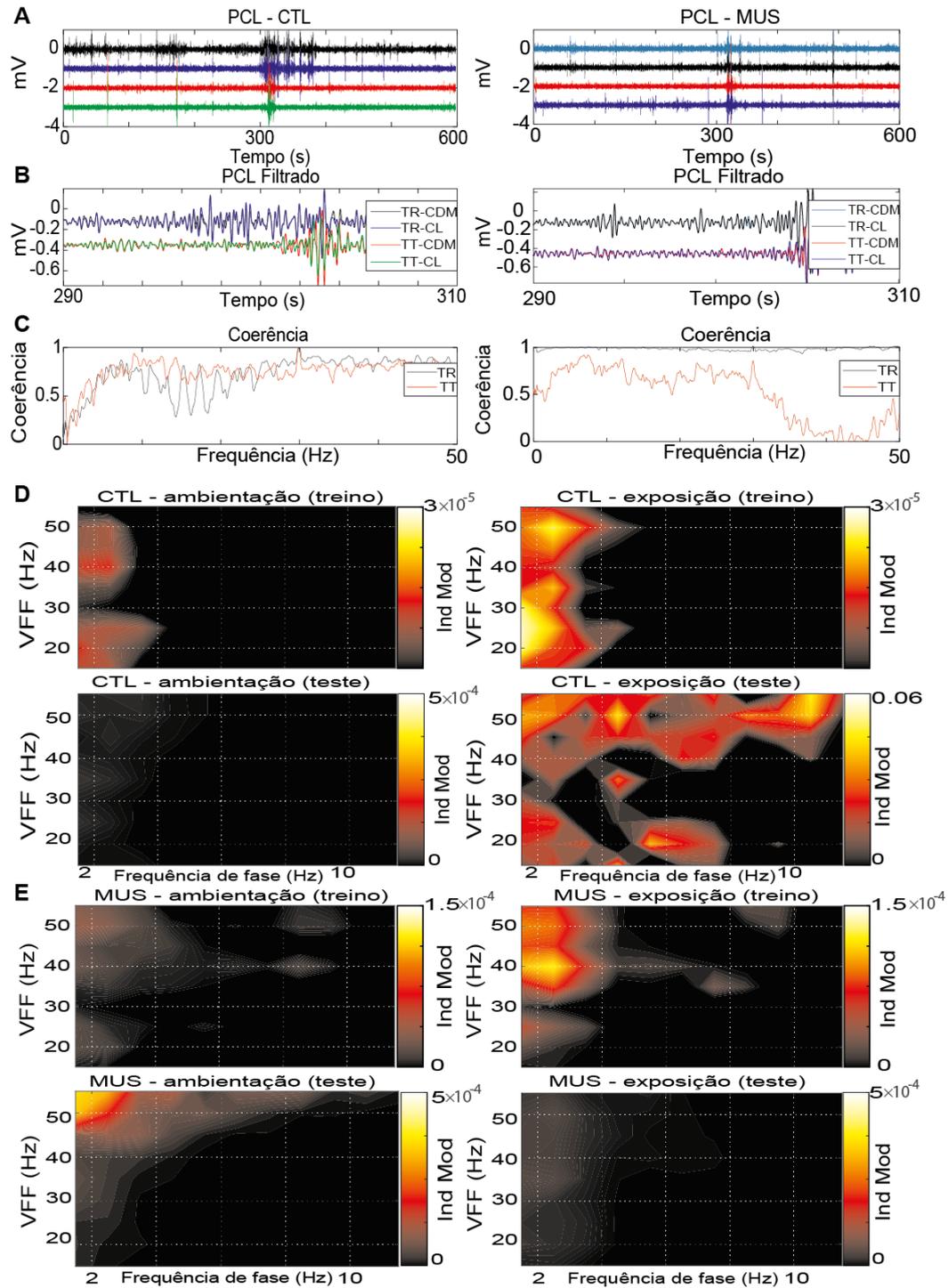


Figura 34 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de consolidação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto do potencial de campo local (PCL) do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) em treino e teste. Em B, o sinal de CDM e CL foi sobreposto e separado entre treino (TR) e teste (TT) para confirmar a coerência em C. Em C, a força da coerência está apresentada para as frequências de 1 – 50 Hz. Em D e E, apresentado o índice de modulação (Ind Mod) do valor de frequência de fase (VFF) para o grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), em que avaliamos a capacidade do córtex lateral induzir padrão de banda de frequência no córtex dorsomedial, respectivamente. A escala de cor das figuras D e E indica uma escala de calor. Os dados expressão como a comunicação entre os núcleos do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) estava durante o processo de consolidação de memória aversiva, não é observada diferenças na coerência do sinal, mas no valor de VFF observamos menor relação do grupo MUS comparado ao CLT.

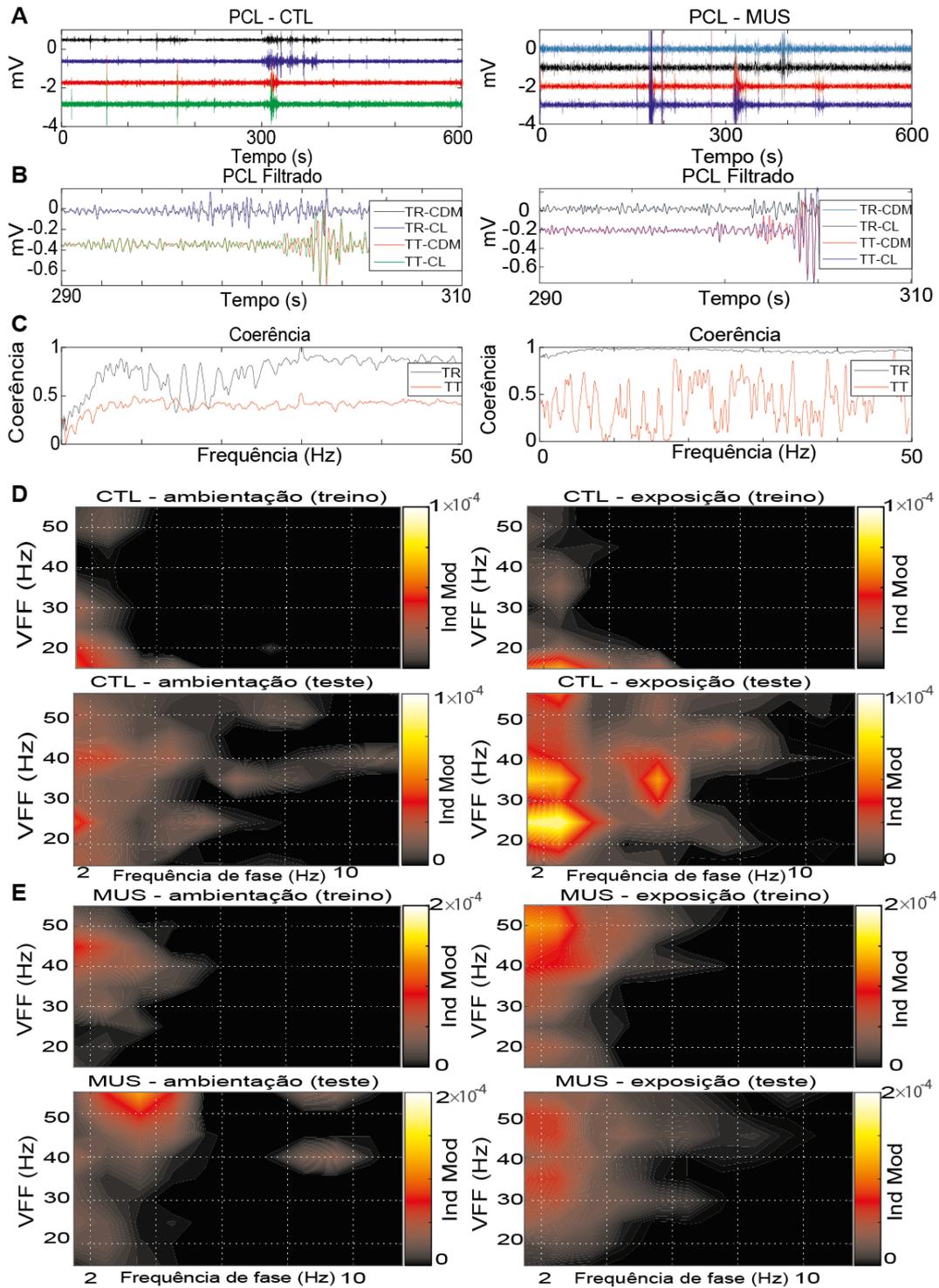


Figura 35 – Coerência de atividade entre o córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino e teste, durante o processo de evocação de memória aversiva. Em A, apresentamos o sinal bruto do potencial de campo local (PCL) do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) em treino e teste. Em B, o sinal de CDM e CL foi sobreposto e separado entre treino (TR) e teste (TT) para confirmar a coerência em C. Em C, a força da coerência está apresentada para as frequências de 1 – 50 Hz. Em D e E, apresentado o índice de modulação (Ind Mod) do valor de frequência de fase (VFF) para o grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), em que avaliamos a capacidade do córtex lateral induzir padrão de banda de frequência no córtex dorsomedial, respectivamente. A escala de cor das figuras D e E indica uma escala de calor. Os dados expressão como a comunicação entre os núcleos do córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) estava durante o processo de evocação de memória aversiva, em que não foram observadas diferenças entre os grupos.

5.6 Acoplamento de frequência cruzada (AFA)

O acoplamento de frequência-amplitude foi avaliado para os processos de aquisição (Figura 40), consolidação (Figura 41) e evocação (Figura 42). Foi observada uma relação de interação entre os grupos a níveis de diferentes índices de modulação.

Ao comparar os valores de índice de modulação delta-beta no córtex dorsomedial, observou-se efeito de tempo ($F(1,24) = 8,44$, $p = 0,008$, $\sigma = 0,26$) e memória ($F(2,24) = 4,67$, $p = 0,01$, $\sigma = 0,28$). Os valores de índice de modulação são maiores durante o teste do que no treino ($p = 0,04$) (Figura 36). Quando avaliado os valores de índice de modulação delta-gama, também foi observado efeito de condição ($F(1,24) = 6,51$, $p = 0,017$, $\sigma = 0,21$), em que o IM é maior para a EXP do que AMB ($p = 0,02$), e marginalmente significativo para efeito dos processos de memória ($F(2,24) = 3,21$, $p = 0,05$, $\sigma = 0,21$) e efeito de grupo ($F(1,24) = 3,67$, $p = 0,05$, $\sigma = 0,13$) (Figura 37).

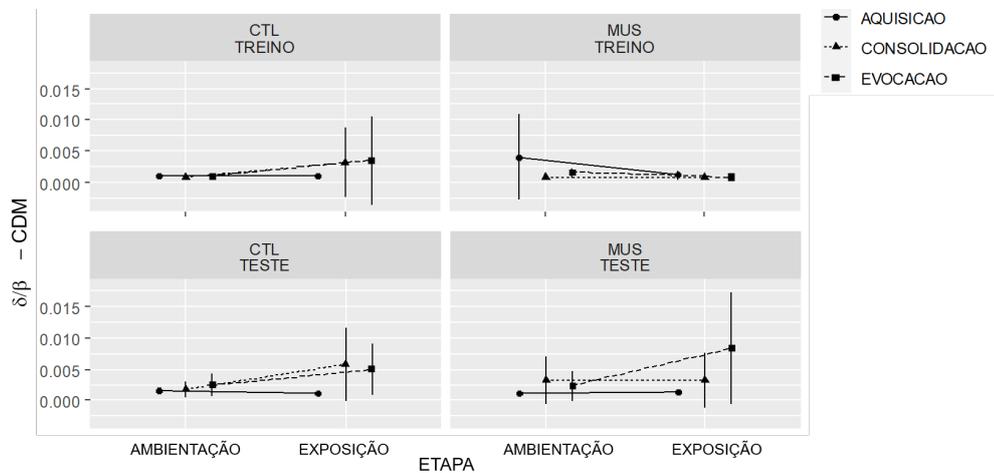


Figura 36 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-beta) dos grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex dorsomedial (CDM), durante os processos de memória. No eixo y está índice de modulação (IM) do acoplamento entre delta-beta (δ/β) para o núcleo do córtex dorsomedial (CDM). No eixo x está à esquerda a tarefa que envolve a ambientação (AMB) e exposição (EXP). Os resultados estão apresentados distribuídos nos três processo de memória, em que é observado o menor IM para o grupo MUS na aquisição.

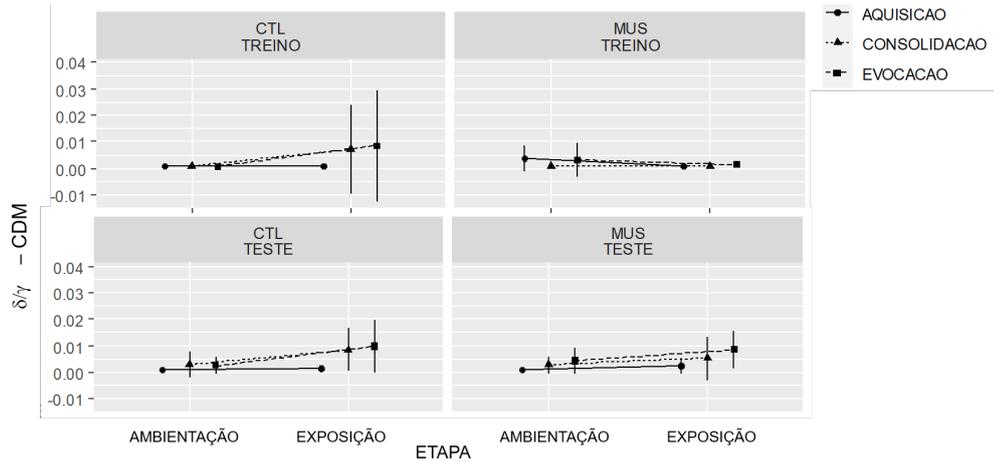


Figura 37 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-gama) dos grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex dorsomedial (CDM), durante os processos de memória. No eixo y está índice de modulação (IM) do acoplamento entre delta-gama (δ/γ) para o núcleo do córtex dorsomedial (CDM). No eixo x está à esquerda a tarefa que envolve a ambientação (AMB) e exposição (EXP). Os resultados estão apresentados distribuídos nos três processo de memória, em que é observado o menor IM para o grupo MUS na aquisição.

Ao comparar os valores de IM de delta-beta no córtex lateral observou-se efeito de tempo (treino vs. teste) ($F(1,24) = 13,01$, $p = 0,02$, $\sigma = 0,35$) (Figura 38). Além disso foi observado que durante o teste aumentou o índice de modulação comparado ao treino ($p < 0,001$). Já para os valores de índice de modulação delta-gama foi observado efeito de tempo (treino vs. teste) ($F(1,24) = 10,56$, $p = 0,03$, $\sigma = 0,31$) e memória ($F(1,24) = 13,01$, $p = 0,02$, $\sigma = 0,35$). Foi observado aumento do índice de modulação na exposição comparado à ambientação ($p = 0,003$) e também foi observado para o processo de memória da evocação comparado à aquisição ($p = 0,04$) (Figura 39).

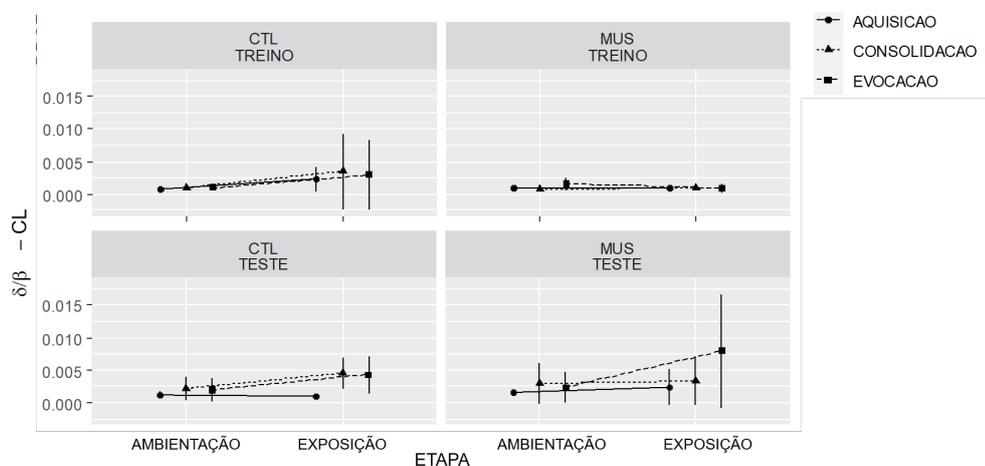


Figura 38 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-beta) para os grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex lateral (CL), durante os processos de memória. No eixo y está índice de modulação (IM) do acoplamento entre delta-beta (δ/β) para o núcleo do córtex lateral (CL). No eixo x está à esquerda a tarefa que envolve a ambientação (AMB) e exposição (EXP). Os

resultados estão apresentados distribuídos nos três processos de memória, em que é observado o menor IM para o grupo MUS na aquisição.

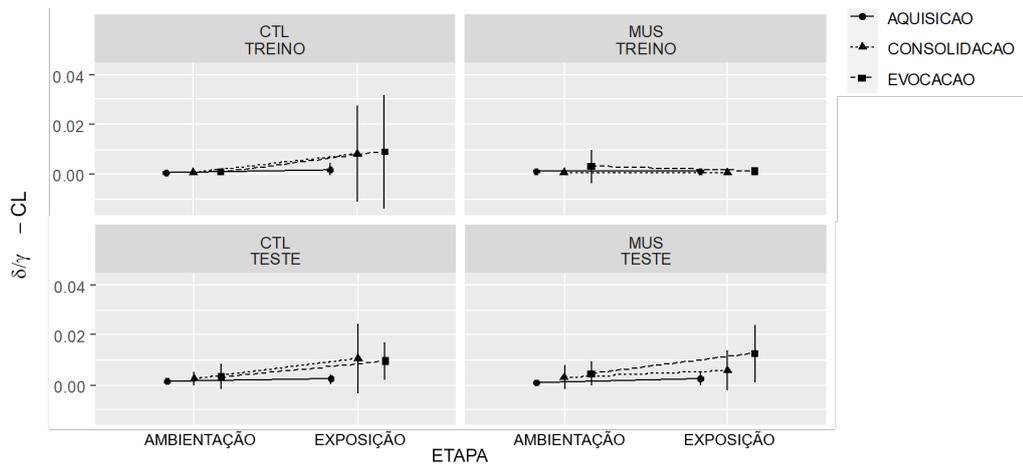


Figura 39 – Interação do modelo fatorial para acoplamento de fase-amplitude (AFA - delta-gama) para os grupos controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo do córtex lateral (CL), durante os processos de memória. No eixo y está índice de modulação (IM) do acoplamento entre delta-gama (δ/γ) para o núcleo do córtex lateral (CL). No eixo x está à esquerda a tarefa que envolve a ambientação (AMB) e exposição (EXP). Os resultados estão apresentados distribuídos nos três processos de memória, em que é observado o menor IM para o grupo MUS na aquisição.

De maneira geral, o acoplamento fase-amplitude está presente no processo de formação de memória nos lagartos, principalmente quando observamos que a correspondência de coerência de comunicação entre os núcleos é correspondida. Quando o muscimol agiu na etapa da aquisição ao impedir a coerência de atividade entre o CL e CDM, percebemos que não houve modulação significativa do grupo MUS na aquisição, principalmente quando avaliamos a reexposição à tarefa e esperamos um aumento do acoplamento de fase-amplitude, o que foi observado nas etapas de consolidação e evocação. O índice de modulação mostra a funcionalidade da região cerebral sobre funções cognitivas.

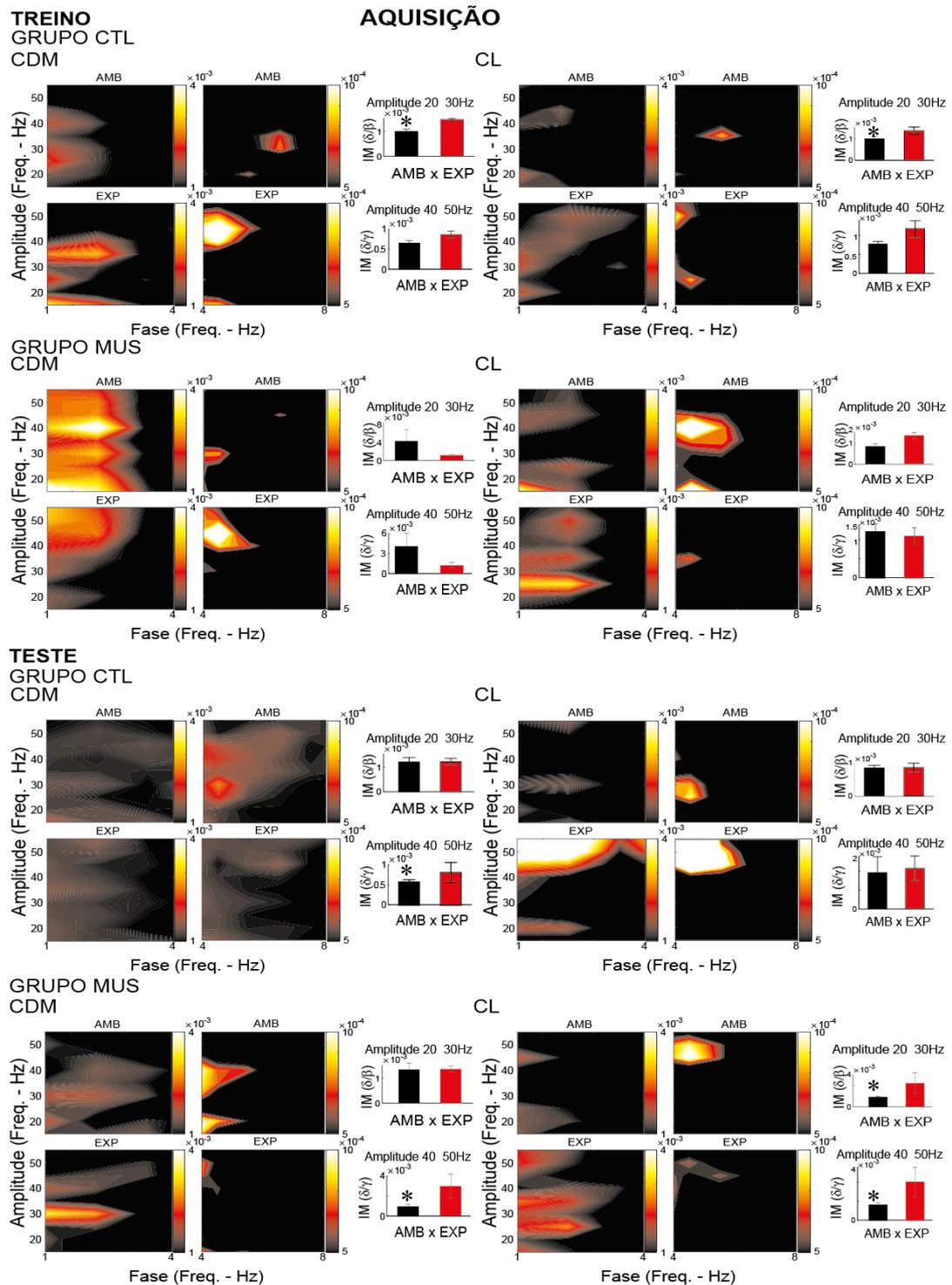


Figura 40 – Acoplamento fase-amplitude do grupo controle (CTL) e muscimol (MUS), do núcleo córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino (TR) e teste (TT), durante o processo de aquisição de memória aversiva. Treino (TR) e teste (TT) estão apresentados em dois blocos, separados entre o grupo controle (CTL_CON) e muscimol (MUS_CON) que foram apresentados através de espectrogramas da ambientação (AMB) e exposição (EXP) nas frequências de 2-4 Hz (δ) e 4-8 Hz (θ). Os acoplamentos estão dispostos em gráficos de barra para: de 2-4 (δ) Hz modulando a amplitude de 20-30 (β) Hz e 40-50 (γ) Hz, que indicam o índice de modulação (IM (δ/β) e IM (δ/γ)) da ambientação (AMB - barra preta) contra exposição (EXP - barra vermelha), respectivamente. A escala de cor indica a força do índice de modulação (IM) para cada banda de frequência e condições experimentais. O ‘*’ indica as diferenças da exposição para a ambientação.

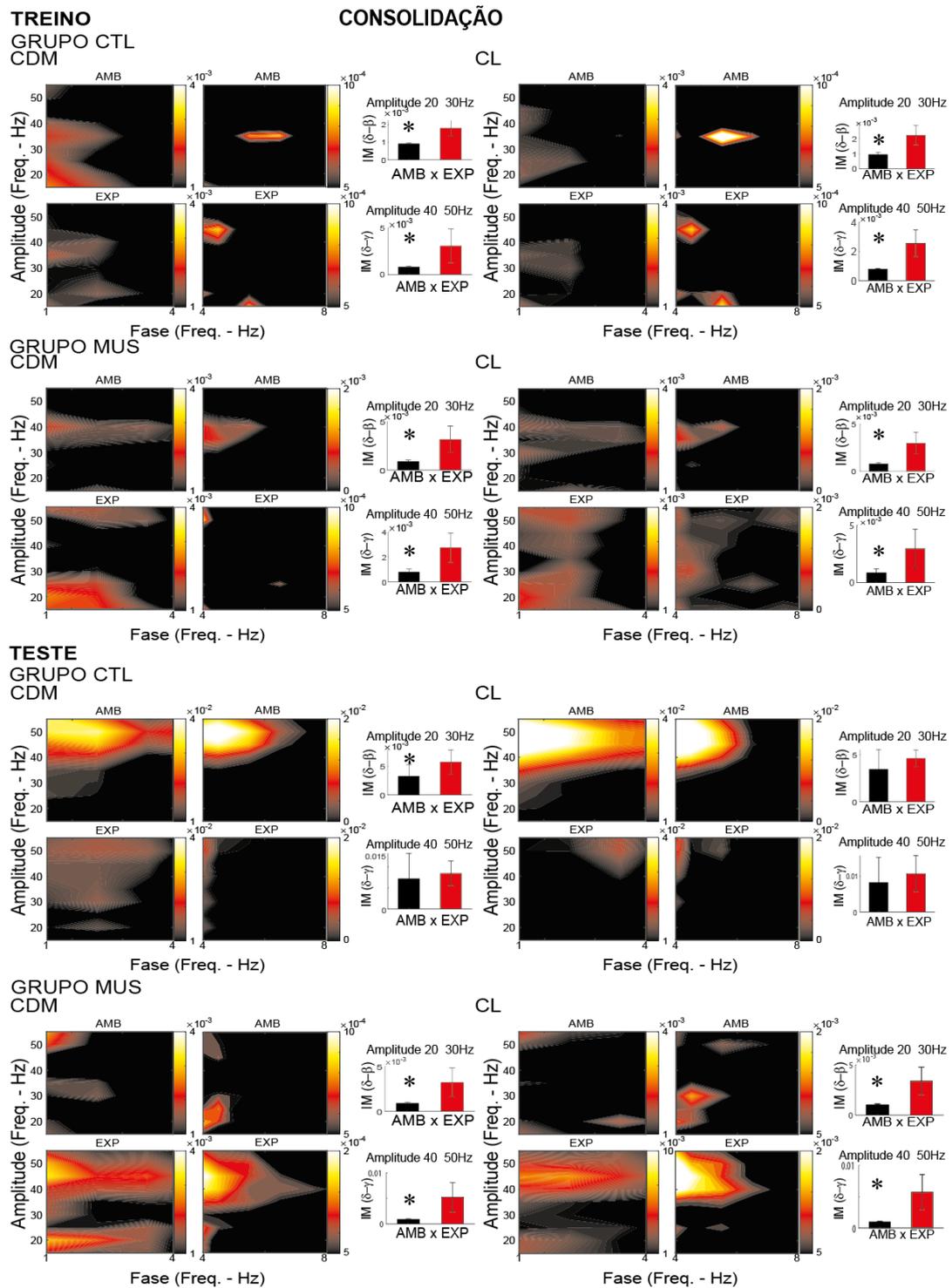


Figura 41 – Acoplamento fase-amplitude do grupo controle (CTL_CON) e muscimol (MUS_CON), do núcleo córtex dorsomedial (CDM) e lateral (CL) para treino (TR) e teste (TT), durante o processo de consolidação de memória aversiva. Treino (TR) e teste (TT) estão apresentados em dois blocos, separados entre o grupo controle (CTL_CON) e muscimol (MUS_CON) que foram apresentados através de espectrogramas da ambientação (AMB) e exposição (EXP) nas frequências de 2-4 Hz (δ) e 4-8 Hz (θ). Os acoplamentos estão dispostos em gráficos de barra para: de 2-4 (δ) Hz modulando a amplitude de 20-30 (β) Hz e 40-50 (γ) Hz, que indicam o índice de modulação (IM (δ/β) e IM (δ/γ)) da ambientação (AMB - barra preta) contra exposição (EXP - barra vermelha), respectivamente. A escala de cor indica a força do índice de modulação (IM) para cada banda de frequência e condições experimentais. O ‘*’ indica as diferenças da exposição para a ambientação.

Em resumo apresentamos a Tabela 11, quando indica se houve aumento (+), redução (-) ou neutralidade (0) entre as fases de ambientação e exposição, para o treino e teste e para os grupos CTL e MUS nos processos de aquisição, consolidação e evocação. Esses dados nos ajudam a entender que para o parâmetro do acoplamento de fase-amplitude, o maior prejuízo está associado ao processo de aquisição de memória aversiva, pois foi nesse passo que se observa a maior quantidade de prejuízos acumulados.

Tabela 11 – Resumo dos resultados sobre o acoplamento de fase amplitude (AFA)

AFA					
Grupo	Treino		Teste		Processo mnemônico
	Ambientação	Exposição	Ambientação	Exposição	
CTL_AQ	+	+	+	+	Aquisição
MUS_AQ	-	-	0	0	
CTL_CON	+	+	+	+	Consolidação
MUS_CON	-	+	-	+	
CTL_EVO	+	+	+	+	Evocação
MUS_EVO	-	+	-	+	

Nota: Grupo Controle: na aquisição (CTL_AQ), consolidação (CTL_CON), evocação (CTL_EVO), Grupo Muscimol: na aquisição (MUS_AQ), consolidação (MUS_CON), evocação (MUS_EVO); no treino e teste na fase de ambientação e exposição. Acoplamento de fase-amplitude (AFA).

5.7 A aquisição prejudicada pelo muscimol

Tendo em vista a vasta dimensionalidade dos dados apresentados, foi possível observar que a maior alteração do ponto de vista mnemônico, foi associado à etapa da aquisição. Isso porque observamos uma atividade com aumento da potência das bandas de frequências maiores dos grupos infundidos com muscimol comparadas aos grupos controle. A coerência de atividade também foi significativamente alterada, que relatam prejuízo na comunicação do córtex lateral com o dorsomedial. Além de um acoplamento de fase-amplitude reduzido quanto ao processo da memória.

A análise sintetiza as variáveis em três componentes principais, com autovalores de 7,51 (Dim-1), 4,35 (Dim-2) e 3,56 (Dim-3) que explicam a variância dos dados em 70,1% de todos os dados (Figura 43).

Para a Dim-1, temos a prevalência das potências associadas ao núcleo CDM e CL. A potência das bandas de frequência do córtex dorsomedial e lateral explicam a variância dos dados em grande parte (tabela). Além disso é possível visualizar o MUSCIMOL como um fator preponderante na atividade das potências ($r = 0,268$, $p = 0,003$); o grupo MUS (evocação – teste; aquisição – treino) durante o pico de ação do muscimol na ambientação, apresentou um aumento da potência estimada para a dimensão 1 (Beta = 5, $p < 0,001$; Beta = 2, $p < 0,05$,

respectivamente) o que correlaciona diretamente aos grupos MUS_AQ e MUS_EVO o aumento da potências das bandas durante o treino e teste, respectivamente.

Para a Dim-2, temos a prevalência de características do valor de fechamento de fase, em que a coerência é maior quanto maior a interação entre os núcleos. Essa dimensão está associada ao modelo fatorial apresentado anteriormente: memória:grupo:dias:tarefa, em que apresentou moderada participação na variância explicada de 38% ($R^2 = 0,38$, $p = 0,0008$), que foram divididos pelos grupos ($R^2 = 11\%$, $p = 0,004$) e etapa de avaliação de memória ($R^2 = 6\%$, $p = 0,02$), que somados explicam 55% da variância.

Para a Dim-3, a característica chave é o acoplamento de fase-amplitude (AFA) que avalia o aumento da amplitude de frequências altas com a direção do ângulo de frequências baixas, que permitem interpretar eletrofisiologicamente como uma tarefa pode estar sendo respondida pelo animal. O modelo fatorial de interação explicou 40% da variância explicada ($R^2 = 0,4$, $p = 0,0001$). Os dias (treino e teste) explicam 7,2% da variância, a tarefa (AMB e EXP) explicam 5% e a etapa mnemônica explicam 7%, que somados explicam 59,2% da variância da dimensão.

A correlação dos índices de modulação pode ser consultada na Tabela 12.

Tabela 12 – Índices de correlação das componentes principais com as variáveis

Dimensão	Variável	Correlação (r)	p-valor
Dim-1	Potência (CDM, Banda Teta)	0,925	<0,001
	Potência (CDM, Banda Alfa)	0,9	<0,001
	Potência (CDM, Banda Beta)	0,89	<0,001
	Potência (CDM, Banda Gama)	0,9	<0,001
	Potência (CL, Banda Beta)	0,915	<0,001
	Potência (CL, Banda Alfa)	0,914	<0,001
	Potência (CL, Banda Gama)	0,909	<0,001
	Infusão de Muscimol	0,268	0,003
Dim-2	Coerência (CL -> CDM, Delta-Gama (alta))	0,875	<0,001
	Coerência (CL -> CDM, Teta-Gama (baixa))	0,871	<0,001
	Coerência (CL -> CDM, Teta-Beta)	0,868	<0,001
	Coerência (CL -> CDM, Delta-Gama (baixa))	0,846	<0,001
	Coerência (CL -> CDM, Teta-Gama (alta))	0,810	<0,001
	Coerência (CL -> CDM, Delta-Beta)	0,793	<0,001
Dim-3	Acoplamento de Fase-Amplitude (CDM, Delta-Gama)	0,935	<0,001
	Acoplamento de Fase-Amplitude (CL, Delta-Gama)	0,921	<0,001
	Acoplamento de Fase-Amplitude (CL, Delta-Beta)	0,9	<0,001
	Acoplamento de Fase-Amplitude (CDM, Delta-Beta)	0,877	<0,001
	Infusão de Muscimol	0,22	0,01

Nota: Para a Dim-1, o MUSCIMOL foi identificado como um fator preponderante na atividade das potências ($r = 0,268$, $p = 0,003$); o grupo MUS (evocação – teste; aquisição – treino) durante o pico de ação do muscimol na ambientação, apresentou um aumento da potência estimada para a dimensão 1 (Beta = 5, $p < 0,001$; Beta = 2, $p < 0,05$, respectivamente).

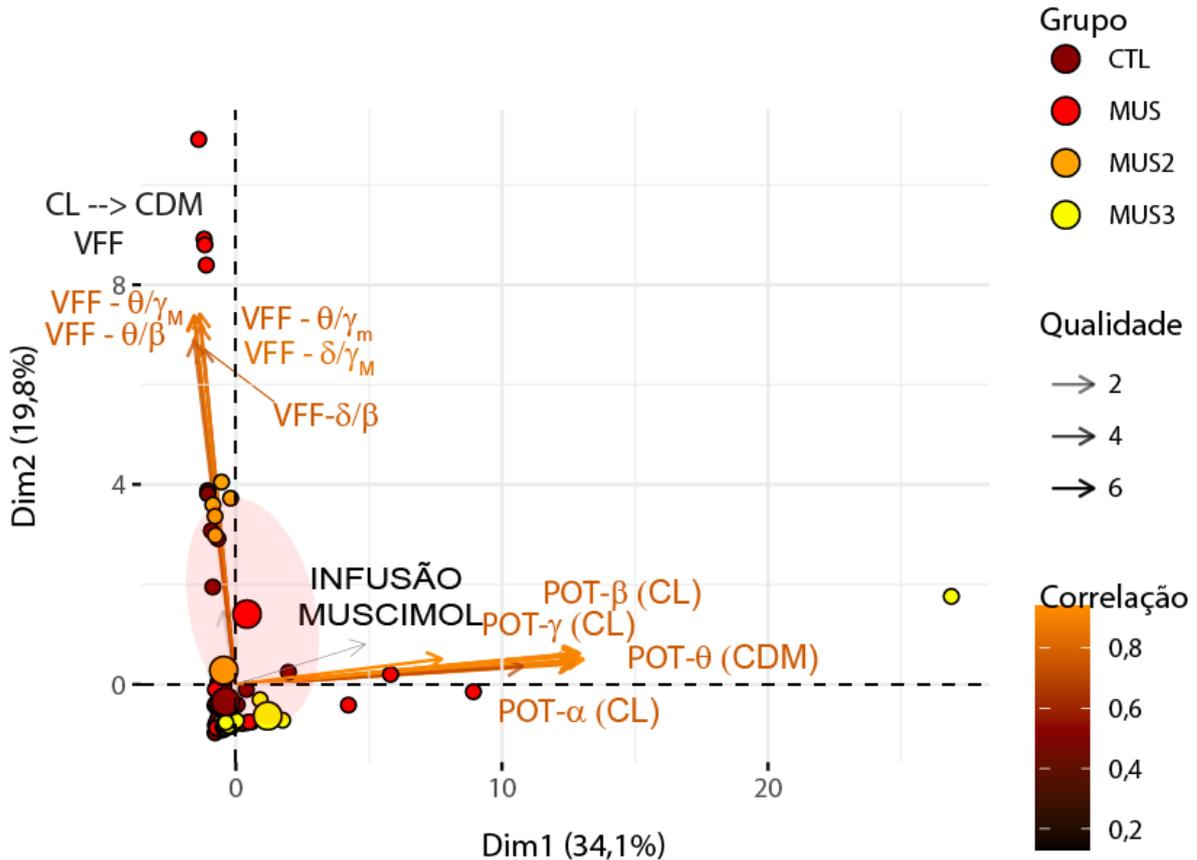


Figura 43 – Avaliação do efeito do muscimol sobre processos mnemônicos. Reduzimos as várias dimensões em duas principais dimensões que apontam o maior efeito de acordo com a variância dos grupos, associada à potência das (POT em μV^2) e coerência (VFF) dos dados sobre a perspectiva do modelo experimental proposto, para a modulação do processo de aquisição pela interação dos núcleos do córtex lateral (CL) → córtex dorsomedial (CDM), bandas delta-beta (δ/β), delta-gama_(baixa) (δ/γ_m), delta-gama_(alta) (δ/γ_M), teta-beta (θ/β), teta- gama_(baixa) (θ/γ_m), teta- gama_(alta) (θ/γ_M).

5.8 Análise do sinal de neurônios piramidais

Apresentamos os resultados descritivos com base no protocolo *whole-cell* com fixação de voltagem e da avaliação corrente-voltagem. Avaliamos os registros unitários de 15 neurônios também as características do potencial de membrana, capacitância e corrente dos neurônios piramidais do hipocampo reptiliano. Com base nesses dados, conseguimos caracterizar que o potencial de repouso de membrana dos neurônios piramidais está em $-65,8 \pm 2,24$ mV ($n = 15$, [-88; -54]), com capacitância em $11,07 \pm 0,59$ pF ($n = 15$, [8,46; 16,55]) a corrente de saída está em $95,37 \pm 1,91$ pA ($n = 15$, [76,37; 122,05]), já a corrente de entrada ocorre em $-60,99 \pm 1,29$ pA ($n = 15$, [-47,55; -89,59]).

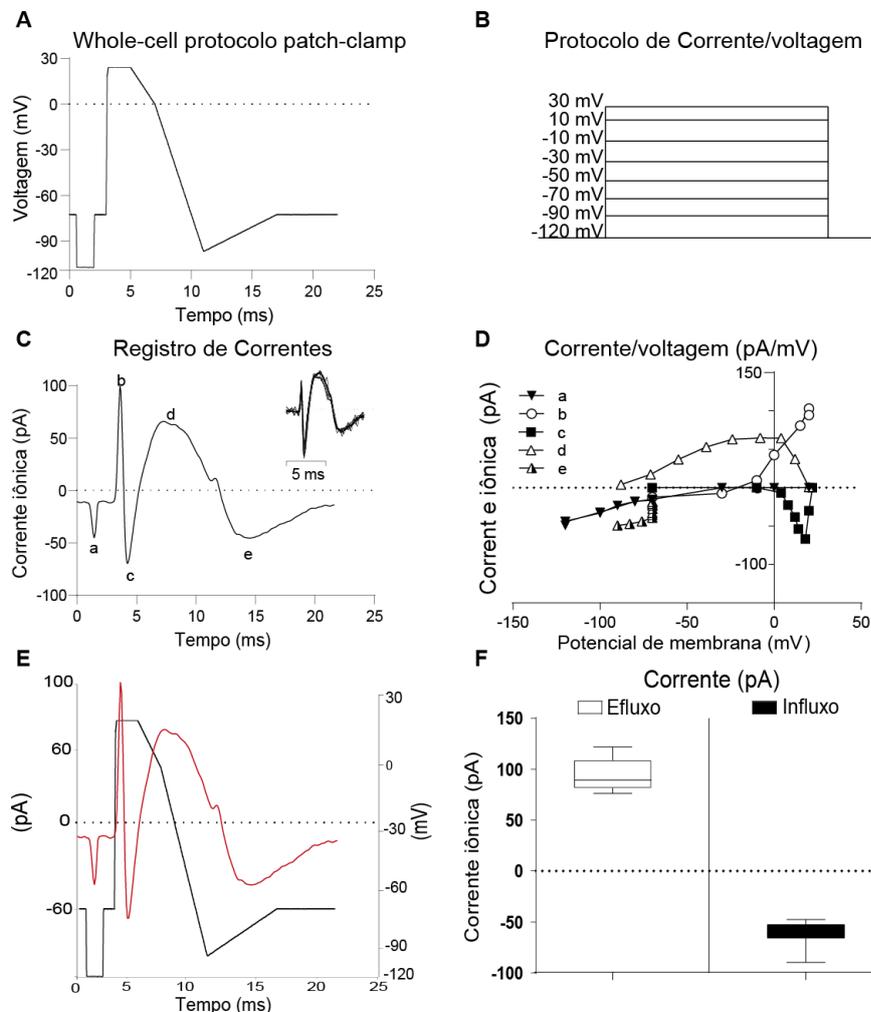
Essas características são importantes, pois nos auxiliam a enxergar as distribuições dos picos de correntes presentes na grande maioria dos sinais coletados através dos 15 neurônios, que apresentaram registro eletrofisiológico adequado. Foram observadas 5 correntes,

declaradas em “a”, “b”, “c”, “d” e “e”, dessas correntes a “a” está associada a uma corrente de cloreto, “b” está associado a uma corrente curta de potássio, “c” é uma corrente de sódio, “d” é uma corrente retardada de potássio, “e” uma corrente retificadora.

As correntes apresentam características específicas com a variação de voltagem e enfatiza-se a grande participação da provável corrente de potássio em todas as etapas da variação de potencial.

A Figura 44 mostra o modelo aplicado na interpretação dos resultados em *Whole-cell voltage clamp* que apresentamos o modelo de correntes que foram registradas nos neurônios piramidais. Esses dados nos auxiliam na compreensão de mecanismos acerca da atuação do potencial de campo local no registro eletrofisiológico dos núcleos.

Figura 44 – Caracterização do perfil das correntes iônicas em neurônios piramidais.



Legenda: Em A está presente o protocolo de *Whole-cell voltage clamp* para registro do perfil eletrofisiológicas das correntes iônicas características do neurônio piramidais. Em B está presentes os intervalos e voltagens específicas utilizadas no protocolo A. Em C está presente as correntes iônicas mais observadas: “a”, “b”, “c”, “d” e “e”. Em D está presente o fluxo das correntes iônicas mediante a flutuação do potencial de membrana estabelecido pelo protocolo A. Em E ocorre o processamento cruzado entre a corrente e a variação do protocolo de *Whole-cell voltage clamp*. Em F apresentamos o pico e vale das correntes transientes e capacitivas. “a” corrente de cloreto,

“b” corrente transiente de potássio, “c” corrente de sódio”, “d” corrente capacitiva de potássio, “e” corrente retificadora.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos a integração dos córtices dorsomedial e lateral do lagarto *Tropidurus hispidus* durante os processos de memória aversiva, além de caracterizar a atividade elétrica de neurônios piramidais no córtex dorsomedial. Durante a inibição farmacológica do córtex lateral, observamos prejuízos na comunicação com o córtex dorsomedial, refletidos em alterações no comportamento de congelamento, na avaliação ao longo do tempo e na frequência da atividade cerebral do grupo MUS durante a aquisição da memória aversiva. Essas alterações resultaram em dificuldades no processo de aquisição da memória aversiva no lagarto estudado. Além disso, em relação às características biofísicas dos neurônios piramidais do córtex dorsomedial, observamos que o potencial de membrana em repouso é semelhante ao observado em mamíferos roedores, enquanto as correntes registradas são comparáveis entre lagartos, tartarugas e de magnitudes menores do que as registradas em mamíferos.

Para iniciar a discussão, é importante abordar a característica comportamental de congelamento. Estudos anteriores investigaram o processo de formação da memória aversiva em lagartos da espécie *T. hispidus*. Esses estudos demonstraram que, após a exposição a um gato doméstico, os lagartos apresentaram alterações comportamentais, como um aumento no comportamento de congelamento durante a fase de treinamento. Além disso, na fase de teste, quando os lagartos foram expostos apenas à gaiola vazia, eles também apresentaram um maior tempo de congelamento em comparação aos animais que não foram expostos ao gato doméstico durante o treinamento (MEDEIROS, 2019; SANTOS, 2018, 2016). Em nosso estudo, seguindo um protocolo semelhante, também observamos um aumento no comportamento de congelamento dos lagartos durante a exposição ao gato doméstico e durante a reexposição à gaiola vazia durante a fase de teste. Além disso, observamos que a inibição do córtex lateral durante a fase de aquisição alterou esse padrão comportamental, o que indica um possível prejuízo nos processos de memória. Esses resultados reforçam a perspectiva de que memórias associadas a emoções têm um papel importante no aprendizado e indicam que ocorreram alterações na comunicação neuronal durante o processo de formação da memória aversiva.

A variabilidade eletrofisiológica ao longo do tempo tem sido descrita em estudos com humanos, para enfatizar que diferentes eventos e comportamentos podem ser percebidos através do registro eletrofisiológico. Em estudos recentes, com humanos, o condicionamento foi

associado à exposição à sequência de fotos que variavam fenótipos emocionais e avaliaram a capacidade de reação emocional e a memorização de sequência de eventos, em que foi revelada diferenças funcionais que diferenciam comportamentos heterogêneos no registro eletrofisiológico. Essa perspectiva enfatiza a necessidade de métodos diferentes para explorar os dados e caracterizar eventos eletrofisiológicos. Quando se analisa a comunicação neuronal ao longo do tempo, é possível distinguir a funcionalidade, em que o sinal oscila com padrões distintos durante a tarefa e como os indivíduos ficam distribuídos para cada condição (SCHEITHAUER *et al.*, 2019; YI *et al.*, 2022). Nossos achados corroboram o que há descrito na literatura porque foram observados diferentes níveis de amplitude no mesmo sinal quando se avalia as condições impostas no período de registro. Esses pontos remetem às condições de ambientação e exposição do animal na tarefa mnemônica, em que fica evidente que um conjunto de dados responderam ao período de ambientação e outro conjunto ao período da exposição. Por fim, o grupo MUS_AQ apresenta a maior dispersão em relação aos outros grupos, o que sugere que, para esse grupo, a tarefa não foi diferenciada como nos outros grupos, indicando a possibilidade de um efeito atenuado da inibição farmacológica do córtex lateral na resposta eletrofisiológica durante a tarefa mnemônica.

Ao examinar perfis heterogêneos no sinal, a partir da perspectiva funcional, foi necessário partir para a caracterização em função da frequência. Para os répteis já há relatos na literatura de que a faixa de frequência dominante desse grupo de répteis senta-e-espera está entre 1 – 4 Hz tanto em registro durante o sono quanto despertos. Enquanto que a presença de faixas de frequências maiores (> 20 Hz) está associada à presença de estímulos externos ou de fusos de sono REM observado em áreas do córtex medial (*Gekko gecko*), região dorso-ventricular (*Pogona Vitticeps*) e dorsal (*Gekko gecko*, *Pseudemys* e *T. hispidus*) (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991; NORIMOTO *et al.*, 2020; SANTOS, 2021). No entanto, para os répteis que são forrageadores como a *Iguana iguana*, nas etapas de atividade comportamental foi observado que sua faixa de atividade está entre 8 – 12 Hz e durante o sono reduz para 5 – 9 Hz (AYALA-GUERRERO; MEXICANO, 2008). Uma importante observação da relação das bandas de atividade está associada à banda 01, de menor frequência, que possui a maior amplitude durante toda à atividade animal experienciada. Essa diferenciação aumenta a variabilidade de atividade eletrofisiológica e diferencia comportamentos entre diferentes indivíduos, o que pode indicar que há diferenças para outros animais também. Nossos resultados mostraram que os núcleos dorsomedial e lateral também preservam essa

característica da baixa frequência e parece estar associado à manutenção da atividade comportamental dos répteis.

Além disso, quando os répteis são expostos a situações estressoras, observa-se um aumento da potência de frequências mais altas, como foi observado para o *G. gecko* e *Pseudemys*. Para essas espécies, a avaliação foi realizada com os animais anestesiados, e o estresse causado por meio da exposição a jatos de ar pressurizados em suas narinas resultou em aumento da potência em frequências maiores que 20 Hz (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991). No entanto, para o *T. hispidus*, a exposição a estímulos aversivos no córtex dorsal já demonstrou um aumento persistente na potência para frequências acima de 15 Hz, tanto durante o treino quanto durante o teste (SANTOS, 2021). No presente estudo, os lagartos desafiados em uma condição normotípica durante a tarefa de exposição aversiva foram capazes de reproduzir aumentos na potência das frequências de 12 a 35 Hz, tanto no córtex dorsomedial quanto no córtex lateral. No entanto, ao avaliar os lagartos que receberam a infusão agonista GABAérgica para modular o processo de aquisição, observamos um padrão de potência que variou entre reduções e aumentos nas bandas de frequência lentas a rápidas. Lai et al. (2015) observaram que o efeito da infusão de muscimol resulta em uma redução aguda seguida de um processo de recuperação da potência normo-típica das bandas de frequência basais de ratos *Wistar* jovens machos adultos. Esse efeito de redução e recuperação é característico do efeito agudo do muscimol e do decaimento de atividade na faixa de meia-vida. Essa avaliação permite compreender aspectos observados em função do tempo e da frequência, uma vez que durante a tarefa mnemônica, o efeito do muscimol prejudicou a potência do sinal neuronal durante o processo de aquisição.

Trabalhos envolvendo investigação eletrofisiológica de atividades de memória têm avaliado ocorrências de frequências teta e gama, assim como variações em suas potências, em mamíferos humanos e não-humanos (DÜZEL; PENNY; BURGESS, 2010). Um estudo realizado por Steenland, Li e Zhuo (2012) demonstrou que a região do córtex cingulado anterior, que se comunica extensivamente com o hipocampo e a amígdala, apresentou um aumento significativo da potência nas bandas de frequência de 2 a 4 Hz durante a etapa de habituação e condicionamento, de 4 a 7,5 Hz durante o treinamento e de 13 a 20 Hz durante o intervalo entre os estímulos em um modelo de memória aversiva condicionada (som e choque) em camundongos machos jovens. Essas alterações nas bandas de frequência foram observadas durante a avaliação de risco e evocação da memória. Similarmente, respostas semelhantes foram observadas em estudos envolvendo estímulos condicionantes (exposição ao gato como

contexto aversivo) com o lagarto *Tropidurus hispidus* (SANTOS, 2021), ou para eventos de estresse agudo, como apresentado pelo registro no *G. gecko* (GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991). Durante o presente estudo com o *Tropidurus hispidus*, observamos um aumento da amplitude do sinal em frequências maiores (> 4 Hz), confirmando que o estímulo externo afeta o potencial de campo e que essa é dependente da tarefa condicionante. Além disso, é importante ressaltar que a prevalência da banda 01 (1 – 4 Hz) contribui para o aumento de potência das frequências na faixa de 15 e 50 Hz.

Tanto em mamíferos não-humanos (BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013) quanto em humanos (KIM; WOO; WOO, 2017) a atividade estressora mantém níveis altos de atividade na faixa entre 15 e 50 Hz. Essa condição está caracterizada à correlação desses eventos com a maior sinalização entre neurônios nos núcleos registrados. A presença de frequências altas é muito importante porque reflete um aumento de atividade neuronal que ocorre tanto a exposição quanto na reexposição a situações estressoras (EINEVOLL *et al.*, 2013). Essa percepção indica uma alteração significativa nos grupos estudados, o que é relevante para a evocação da informação no dia do teste. No grupo MUS_AQ, a avaliação do registro não é reproduzida do treino para o teste, sugerindo que o aumento da atividade na faixa beta-gama requer a integração preservada entre os núcleos para uma aprendizagem efetiva da tarefa. Além disso, a relação observada no grupo MUS_AQ pode estar associada ao papel do córtex lateral no córtex dorsomedial. Ao considerar a composição do córtex lateral, é possível entender que o mecanismo de regulação inibitória e excitatória, proporcionado pela diversidade de neurônios gabaérgicos e glutamatérgicos, participa do ciclo de resposta oscilatória do córtex dorsomedial. A inibição do córtex lateral pode desempenhar um papel importante nas alterações na potência das bandas de frequência durante a aquisição e evocação da memória.

Estudos realizados com répteis, como o *G. gecko* (senta-e-espera) e *Emys orbicularis* (BELEKHOVA, 1981; GAZTELU; GARCÍA-AUSTT; BULLOCK, 1991) mostrou que através de estímulos luminosos diretamente na retina (padrão de feixes pulsados) e de odores (dieta alimentar) foi percebido aumento de atividade em faixas de frequências altas. E para o *Pogona vitticeps* observou-se um aumento de potência na faixa de frequências acima de 30 Hz e acima de 150 Hz durante o sono com movimento rápido dos olhos (SHEIN-IDELSON *et al.*, 2016a). Contudo, quando consideramos a dinâmica do aumento da atividade eletrofisiológica de frequências maiores com a prevalência de frequências delta (1 – 4 Hz) durante a tarefa, podemos avaliar a condição de coerência entre núcleos, acoplamento de fase-amplitude e valor de acoplamento de fase-fase (VFF) que tem sido reportada como evidência de atividade

mnemônica (AXMACHER *et al.*, 2006). Foi observado neste trabalho uma dependência associativa da fase de frequências menores com a amplitude de frequências maiores, na interação entre banda 2-5 Hz com 25-55 Hz. Essa característica pode indicar a formação de memória nesses lagartos, já que está fortemente associada à tarefa de memória (FELL; AXMACHER, 2011).

As características de potência entre os núcleos durante a tarefa podem ser melhor investigadas, quando se avalia a coerência entre os núcleos. A coerência já foi associada a dependência da interação com tarefas de aprendizado, pois pode ou não resultar numa deficiência das etapas mnemônicas (BENCHENANE *et al.*, 2010). Estudos que realizaram a manipulação farmacológica, mas não registraram eletricamente, perceberam que a manipulação de núcleos não hipocampais (CINALLI *et al.*, 2020; SCHULTHEISS *et al.*, 2019) e hipocampais (CROUCH *et al.*, 2018; SENZAI; BUZSÁKI, 2017) de ratos *Wistar*, durante tarefas de memória, resultou em prejuízo nas etapas de aquisição e consolidação quando tiveram suas áreas inibidas pois prejudicaram a comunicação entre os núcleos responsáveis por essas etapas de memorização. No trabalho de Cinalli *et al.* (2020), eles inibiram o córtex perirrinal que se comunica com o hipocampo e observaram um prejuízo de memorização associado ao evento da tarefa. No presente estudo, a inibição do córtex lateral para a integração entre os núcleos apresentou redução da coerência de atividade e em uma modulação difusa entre as bandas de frequência, que caracteriza as respostas diferentes para a potência registrada nos animais controle. Assim, avaliamos o processo de aquisição prejudicado quando associamos o comportamento, potência e coerência do sinal.

A comunicação através da coerência depende de fatores delimitados associados à banda de atividade e frequência que modula sua comunicação (GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Estudos tem relatado a ocorrência de alterações eletrofisiológicas em núcleos inibidos farmacologicamente para tratamento de transtornos como o transtorno do estresse pós-traumático (DIERSCHNABEL, 2018; IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016) e de prejuízos quanto a memória de trabalho (KIM; WOO; WOO, 2017). A resposta difusa observada no presente estudo, quando o núcleo foi modulado na etapa da aquisição, ou durante a evocação parecem ter sido associadas ao efeito do muscimol, de neurônios gabaérgico (não piramidais), que estão presentes no plexo celular externo e na camada celular do córtex lateral, que enviam projeções inibitórias ao córtex dorsomedial. O que foi percebido pelo aumento de amplitude e potência de frequências maiores (> 4 Hz) e em resposta à administração de muscimol e do pico de atividade da droga no núcleo.

Como a modulação de comunicação varia com o condicionamento farmacológico (FURINI; MYSKIW; IZQUIERDO, 2014), interpreta-se que o prejuízo observado no processo de aquisição, mas não na consolidação e evocação, parece estar relacionado com o tipo de memória avaliada, a aversiva. Em estudos anteriores foi observado que o núcleo do córtex dorsal foi participativo em todos os processos de memória, tanto da perspectiva farmacológica, quanto eletrofisiológica (SANTOS, 2018, 2021), mas neste estudo foi avaliada a integração dependente do córtex lateral e dorsomedial e não apenas do núcleo isolado.

A avaliação contexto dependente da presença do agente estressor é um importante fator para a comunicação neuronal durante tarefas mnemônicas contexto dependente da percepção visual (ROBERTS, 2019). No lagarto *Egernia stokesii* e na tartaruga *Pseudemys nelsoni* foi observado que as dicas visuais foram os estímulos sensoriais mais fortes que promoveram o aprendizado de tarefas de memória social e espacial, pois a abordagem foi incentivar a alimentação através do incentivo social (indivíduos do mesmo grupo) ou através de dicas para encontrar o alimento (B; DWA; MJ, 2021; DAVIS; BURGHARDT, 2011). Dada a interação da comunicação através da coerência, é observado o VFF pode mostrar dependência do contexto quando avaliamos o VFF com a inativação do núcleo do CL pelo muscimol na integração com o CDM. Além disso, o aumento dos índices de modulação de VFF observados na integração dos núcleos indica um forte indício da comunicação entre eles e confirma que, nos grupos controle e muscimol que não foram afetados pelo efeito da droga, a modulação de VFF foi dependente do contexto e está relacionada à tarefa de memória.

Os valores de coerência entre baixas frequências e alta frequências revela a comunicação através da coerência (GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Estudos com humanos jovens revelaram a associação entre núcleos visuais e a formação de memórias emocionais entre frequências teta-alfa e gama (SAUSENG *et al.*, 2005; WIANDA; ROSS, 2019). A banda de frequência dominante nos lagartos deste trabalho está na faixa de frequências delta de mamíferos e a coerência é maior nessa faixa. Além disso, os valores de acoplamento também apresentam um peso na mesma banda que se vincula às frequências na faixa de beta e gama. Contudo, o maior índice de modulação foi percebido para a faixa de delta-gama para a integração entre os núcleos do córtex lateral com o dorsomedial. Portanto, a integração foi importante para a formação de memória, principalmente no âmbito do processo de aquisição e foi dependente do contexto da tarefa.

Os aspectos do contexto da tarefa já foram apontados em humanos e ratos *Wistar* adultos como indutores de autorregulação de atividade em núcleos responsáveis pelo processamento da

memória. A interação que ocorre entre picos de potência com a fase de frequências é observada em regiões de neurônios organizados em cesto durante tomada de decisão, condicionamento aversivo e reconhecimento de tarefas (MORMANN *et al.*, 2005; TAVARES; TORT, 2022). Contudo, em lagartos a ocorrência de acoplamento foi percebida no núcleo do córtex dorsal onde se encontram neurônios em cesto, que estão distribuídos ao longo do córtex medial, dorsomedial e dorsal (PIMENTEL *et al.*, 2011). No *T. hispidus* foi observado acoplamento de fase-amplitude no córtex dorsal durante a tarefa de condicionamento aversivo (SANTOS, 2021). No presente trabalho, foi constatado o aumento do acoplamento de atividade, principalmente, do córtex dorsomedial durante a exposição ao estímulo aversivo e na reexposição no teste. Nosso maior índice de modulação ocorre entre bandas delta e gama e com menor intensidade para a associação de delta e beta. O resultado dessa interação é declarado como uma organização espaço-temporal das células locais e da integração com outros núcleos (ISOMURA *et al.*, 2006).

Uma vez observada as características da atividade elétrica do córtex dorsomedial, decidimos por investigar a atividade elétrica de neurônios desse núcleo, uma vez que ele é formado principalmente por neurônios piramidais (PIMENTEL *et al.*, 2011). Registros realizados em neurônios olfativos de tartarugas *Sternotherus odoratus* (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001) e lagartos *Liolaemus* espécies (*L. bellii* e *L. nigroviridis*) (LABRA; BRANN; FADOOL, 2005) apresentaram aspectos como potencial de membrana, capacitância e correntes de entrada e saída semelhantes entre animais diferentes. Quanto às características observadas no registro dos neurônios, os mesmos parâmetros parecem estar preservados nesses répteis.

As características como como resistência de membrana, condutância e correntes são semelhantes ao que declaramos e são evolutivamente próximas de animais mais derivados, como mamíferos (ROUTH *et al.*, 2009). Ainda assim, as características de corrente, capacitância e resistência são maiores em mamíferos do que nos neurônios reptilianos (BARBOSA *et al.*, 1996; LEE; LEE, 2017), além disso o tamanho desses neurônios são maiores do que os dos répteis. Para possibilitar o registro dos neurônios a resistência de selamento precisava ser maior do que é observado em neurônios mamíferos, embora o potencial de membrana estivesse em média muito semelhante ao observado em neurônios hipocampais, principalmente da região ventral. Quanto ao fluxo de correntes iônicas, foi limitado a cerca de um terço do valor tipicamente observado em neurônios mamíferos (FADOOL; WACHOWIAK; BRANN, 2001). Em neurônios do hipocampo mamífero é observado que a

condutância ao sódio é aumentada nas regiões do hipocampo, e esse comportamento aumenta a condutância para o cálcio que participa dos processos de plasticidade tanto no brotamento axonal quanto na disponibilidade de receptores NMDA e AMPA (MALIK *et al.*, 2016). Nossos resultados em comparação aos mamíferos, nos leva a crer que a condutância é influenciada pelo Ca^{2+} e ativa correntes de cloreto quando hiperpolarizadas. Já as correntes de potássio, do tipo longa, assim como as observadas no lagarto *L. nigoviridis*, repolarizam o tecido e dificultam a capacidade dos neurônios de atingirem o limiar de potencial de ação e por efeito podem dificultar a abertura de canais para sódio ao longo da membrana (LABRA; BRANN; FADOOL, 2005).

Em mamíferos foi observada que as fases de atividade delta, no hipocampo, estão associadas à aprendizagem de memória espacial (TODOROVA; ZUGARO, 2019). O princípio da comunicação através da coerência faz parte dos processos de memória e da atividade comportamental (FURTUNATO *et al.*, 2020; LÓPEZ-AZCÁRATE *et al.*, 2013). Além disso, as adaptações ao longo da evolução colaboram para a diversidade de comportamentos (BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013). A preservação de características eletrofisiológicas como a banda de frequências lentas, para estados de repouso e sono, está associada à percepção do animal com o ambiente e suas características comportamentais, como no caso do *T. hispidus* que é senta-e-espera. A potência do sinal eletrofisiológico revela um aumento da atividade durante tarefas visualmente ativas e respostas sobre a memória que são moduladas por interação farmacológica, o que permite interpretações acerca de como proceder com drogas que modulam processos da memória. Apontamos que a coerência entre núcleos também participa de etapas da memória, mas está associada a situações funcionais da memória para o nosso modelo. Dessa forma, o presente trabalho mostra características evolutivas que estão preservadas entre animais de diferentes derivações e a ocorrência de características homólogas entre essas espécies.

7 CONCLUSÃO

Sobre a participação dos núcleos corticais nos processos de memória, temos o córtex dorsomedial que parece participar dos três processos de memória, com ênfase na aquisição. Já o córtex lateral parece participar como um mediador de informações sensoriais nos três processos de memória. Quanto a integração do córtex dorsomedial e lateral sobre os processos de memória aversiva, percebemos que o principal componente está associado à aquisição da

memória. A inibição do córtex lateral alterou significativamente o domínio das frequências lentas e aumenta a potência de frequências rápidas, reduziu a coerência de atividade e acoplamentos de fase-fase e fase-amplitude no processo de aquisição da memória aversiva. Quanto ao comportamento, foi observado que o congelamento é uma característica preservada nos processos de memória, mas durante o processo de aquisição a inibição prejudica a ocorrência desse comportamento defensivo. Apesar de preliminar, a descrição do potencial neuronal apresentou influência de correntes repolarizantes que retardam a geração do potencial de ação.

8 LIMITAÇÃO E PERSPECTIVA

As limitações do presente estudo estão relacionadas à caracterização inicial das características biofísicas dos neurônios piramidais dos lagartos, pois utilizamos da técnica de dissociação aguda para neurônios e isso pode alterar características biofísicas intrínsecas, logo declaramos que avaliar através de outras perspectivas pode ser interessante para comparar resultados. Deve-se enfatizar que o objetivo do presente trabalho é dar início a perspectiva das propriedades biofísicas dos neurônios reptilianos, afim de ser base para estudos posteriores com base em nossos achados. É notável que estudos futuros precisam estabelecer a relação direta entre os experimentos de memória com lagartos e as alterações nas propriedades biofísicas dos neurônios em questão.

Dessa maneira, estabelecemos perspectivas acerca dos trabalhos que podem utilizar de matrizes multi-eletrodo que registrem neurônios a nível celular. Além, de avaliar a participação dos canais iônicos e suas respostas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, R. L.; PROTÁZIO, S.; BARBOSA, L.; CAVALCANTI, D. Q.; CARLOS, L.; LOPEZ, S.; MESQUITA, D. O.; DOS SANTOS PROTÁZIO, A.; BARBOSA DE QUEIROGA CAVALCANTI, L.; LOPEZ, L. C. S.; MESQUITA, D. O. Geographical Ecology of *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae) and *Cnemidophorus ocellifer* (Squamata: Teiidae) in a Neotropical Region: A Comparison among Atlantic Forest, Caatinga, and Coastal Populations. **Journal of Herpetology**, v. 52, n. 2, p. 145–155, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1670/16-018>. Acesso em: 27 mar. 2020.
- AMEMIYA, S.; REDISH, A. D. Hippocampal Theta-Gamma Coupling Reflects State-Dependent Information Processing in Decision Making. **Cell Reports**, v. 22, n. 12, p. 3328–3338, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.02.091>. Acesso em: 10 set. 2020.
- ASOK, A.; KANDEL, E. R.; RAYMAN, J. B. The Neurobiology of Fear Generalization. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. January, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00329>. Acesso em: 13 mar. 2020.
- ASOK, A.; LEROY, F.; RAYMAN, J. B.; KANDEL, E. R. **Molecular Mechanisms of the Memory Trace**. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.10.005>
- AXMACHER, N.; MORMANN, F.; FERNÁNDEZ, G.; ELGER, C. E.; FELL, J. Memory formation by neuronal synchronization. **Brain Research Reviews**, v. 52, n. 1, p. 170–182, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESREV.2006.01.007>
- AYALA-GUERRERO, F.; MEXICANO, G. Sleep and wakefulness in the green iguanid lizard (*Iguana iguana*). **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology**, v. 151, n. 3, p. 305–12, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.03.027>
- B, S.; DWA, N.; MJ, W. Learning simple and compound stimuli in a social lizard (*Egernia stokesii*). **Journal of comparative psychology (Washington, D.C. : 1983)**, v. 135, n. 2, p. 208–218, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/COM0000260>. Acesso em: 28 set. 2021.
- BABILONI, C. *et al.* Hippocampal, amygdala, and neocortical synchronization of theta rhythms is related to an immediate recall during Rey auditory verbal learning test. **Human Brain Mapping**, v. 30, n. 7, p. 2077–2089, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hbm.20648>
- BABILONI, C.; DEL, C.; LIZIO, R.; NOCE, G.; CORDONE, S. Abnormalities of Cortical Neural Synchronization Mechanisms in Subjects with Mild Cognitive Impairment due to Alzheimer ' s and Parkinson ' s Diseases : An EEG Study. v. 59, p. 339–358, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-160883>
- BAILEY, C. H.; KANDEL, E. R.; HARRIS, K. M. Structural components of synaptic plasticity and memory consolidation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 7, n. 7, p. 1–29, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021758>
- BARBOSA, C. T. F.; ALKONDON, M.; ARACAVA, Y.; MAELICKE, A.; ALBUQUERQUE, E. X. Ligand-gated ion channels in acutely dissociated rat hippocampal neurons with long dendrites. **Neuroscience Letters**, v. 210, n. 3, p. 177–180, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)12679-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12679-3)
- BATABYAL, A.; THAKER, M. Lizards from suburban areas learn faster to stay safe. **Biology Letters**, v. 15, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0009>

- BEAN, B. P. The action potential in mammalian central neurons. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 451–465, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2148>
- BELEKHOVA, M. G. Tegmento-telencephalic relations in turtles. **Neurophysiology**, v. 12, n. 3, p. 178–184, 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01068050>
- BELEKHOVA, M. G. An underestimated visual pathway in reptiles. **Neuroscience Letters**, v. 58, n. 1, p. 111–116, 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(85\)90338-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(85)90338-6). Acesso em: 26 out. 2020.
- BELEKHOVA, M. G.; AKULINA, M. M. Comparative electrophysiological characteristics of afferent representation in the cortical and striatal divisions of the turtle forebrain. **Neurophysiology**, v. 7, n. 2, p. 144–151, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01062861>
- BELLUSCIO, M. A.; MIZUSEKI, K.; SCHMIDT, R.; KEMPTER, R.; BUZSÁKI, G. Cross-frequency phase-phase coupling between theta and gamma oscillations in the hippocampus. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 2, p. 423–435, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4122-11.2012>. Acesso em: 13 abr. 2020.
- BENCHENANE, K.; PEYRACHE, A.; KHAMASSI, M.; TIERNEY, P. L.; GIOANNI, Y.; BATTAGLIA, F. P.; WIENER, S. I. Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal- Prefrontal Network upon Learning. **Neuron**, v. 66, n. 6, p. 921–936, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2010.05.013>
- BINGMAN, V. P.; RODRÍGUEZ, F.; SALAS, C. The Hippocampus of Nonmammalian Vertebrates. *In: Evolution of Nervous Systems: Second Edition. [S. l.]*: Elsevier, 2016. v. 1–4, p. 479–489. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804042-3.00013-0>
- BONNEFOND, M.; JENSEN, O. Gamma Activity Coupled to Alpha Phase as a Mechanism for Top-Down Controlled Gating. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0128667, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128667>
- BRISCOE, S. D.; RAGSDALE, C. W. Evolution of the Chordate Telencephalon. **Current Biology**, v. 29, n. 13, p. R647–R662, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.05.026>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- BUZSAKI, G. Neuronal Oscillations in Cortical Networks. **Science**, v. 304, n. 5679, p. 1926–1929, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1099745>. Acesso em: 15 set. 2020.
- BUZSÁKI, G. Hippocampal sharp waves: Their origin and significance. **Brain Research**, v. 398, n. 2, p. 242–252, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91483-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91483-6)
- BUZSÁKI, G. **How Do Neurons Sense a Spike Burst?**. *[S. l.: s. n.]* Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.013>
- BUZSÁKI, G.; ANASTASSIOU, C. A.; KOCH, C. The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 13, n. 6, p. 407–420, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn3241>. Acesso em: 11 nov. 2019.
- BUZSÁKI, G.; HSU, M.; HORVÁTH, Z.; GAGE, F. H. Physiological and behavioral consequences of delayed septal grafts in the subcortically denervated hippocampus. **Restorative Neurology and Neuroscience**, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/RNN-1992-4602>
- BUZSÁKI, G.; LOGOTHETIS, N.; SINGER, W. Scaling Brain Size, Keeping Timing:

- Evolutionary Preservation of Brain Rhythms. **Neuron**, v. 80, n. 3, p. 751–764, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.002>
- ÇALIŞKAN, G.; STORK, O. Hippocampal network oscillations as mediators of behavioural metaplasticity: Insights from emotional learning. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 154, p. 37–53, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.NLM.2018.02.022>
- CALLAGHAN, C. T.; MAJOR, R. E.; WILSHIRE, J. H.; MARTIN, J. M.; KINGSFORD, R. T.; CORNWELL, W. K. Generalists are the most urban-tolerant of birds: a phylogenetically controlled analysis of ecological and life history traits using a novel continuous measure of bird responses to urbanization. **Oikos**, v. 128, n. 6, p. 845–858, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/oik.06158>. Acesso em: 27 mar. 2020.
- CARLSON, N. R. **Physiology of Behaviour**. [S. l.: s. n.].
- CHANG, Y. C.; HUANG, S. L. The influence of attention levels on psychophysiological responses. **International Journal of Psychophysiology**, v. 86, n. 1, p. 39–47, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2012.09.001>
- CINALLI, D. A.; COHEN, S. J.; GUTHRIE, K.; STACKMAN, R. W. Object Recognition Memory: Distinct Yet Complementary Roles of the Mouse CA1 and Perirhinal Cortex. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2020.527543>
- COENEN, A.; ZAYACHKIVSKA, O. Adolf Beck: A pioneer in electroencephalography in between Richard Caton and Hans Berger. **Advances in cognitive psychology**, v. 9, n. 4, p. 216–21621, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/v10053-008-0148-3>
- COLGIN, L. L. Oscillations and hippocampal-prefrontal synchrony. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 21, n. 3, p. 467–474, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.04.006>. Acesso em: 8 out. 2021.
- COLGIN, L. L. Rhythms of the hippocampal network. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 4, p. 239–249, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.21>
- COSANS, C. E.; ULINSKI, P. S. Spatial organization of axons in turtle visual cortex: Intralamellar and interlamellar projections. **Journal of Comparative Neurology**, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cne.902960404>
- CROUCH, B.; SOMMERLADE, L.; VESELCIC, P.; RIEDEL, G.; SCHELTER, B.; PLATT, B. Detection of time-, frequency- and direction-resolved communication within brain networks. p. 1–15, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19707-1>
- DALMAY, T.; ABS, E.; POORTHUIS, R. B.; HARTUNG, J.; PU, D. L.; ONASCH, S.; LOZANO, Y. R.; SIGNORET-GENEST, J.; TOVOTE, P.; GJORGJEVA, J.; LETZKUS, J. J. A Critical Role for Neocortical Processing of Threat Memory. **Neuron**, v. 104, n. 6, p. 1180–1194.e7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.09.025>
- DAVIS, K. M.; BURGHARDT, G. M. Turtles (*Pseudemys nelsoni*) Learn About Visual Cues Indicating Food From Experienced Turtles. **Journal of Comparative Psychology**, v. 125, n. 4, p. 404–410, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/a0024784>
- DE ANDRADE, A. C. Metropolitan lizards? Urbanization gradient and the density of lagartixas (*Tropidurus hispidus*) in a tropical city. **Ecology and Evolution**, v. 10, n. 4, p. 1740–1750, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ece3.5518>. Acesso em: 17 mar. 2020.
- DEBANNE, D.; INGLEBERT, Y.; RUSSIER, M. Plasticity of intrinsic neuronal excitability. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 54, p. 73–82, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.09.001>

- DEFEUDIS, F. V. Physiological and behavioral studies with muscimol. **Neurochemical Research**, v. 5, n. 10, p. 1047–1068, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00966163>. Acesso em: 25 set. 2020.
- DELORME, A.; MAKEIG, S. EEGLAB Wikitorial. **NatGenet**, v. 14, n. 1061- 4036 LA- eng PT- Comment PT- Letter SB- IM, p. 132–133, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs090>
- DIERSCHNABEL, A. L. **ESTRESSE, APÓS A APRENDIZAGEM, REDUZ A PERSISTÊNCIA DE UMA MEMÓRIA AVERSIVA EM RATOS**. 2018. - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE, Natal-RN, 2018.
- DJEBARI, S.; IBORRA-LÁZARO, G.; TEMPRANO-CARAZO, S.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, I.; NAVA-MESA, M. O.; MÚNERA, A.; GRUART, A.; DELGADO-GARCÍA, J. M.; JIMÉNEZ-DÍAZ, L.; NAVARRO-LÓPEZ, J. D. G-Protein-Gated Inwardly Rectifying Potassium (Kir3/GIRK) Channels Govern Synaptic Plasticity That Supports Hippocampal-Dependent Cognitive Functions in Male Mice. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 41, n. 33, p. 7086–7102, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2849-20.2021>. Acesso em: 5 abr. 2023.
- DRAGOI, G.; BUZSÁKI, G. Temporal encoding of place sequences by hippocampal cell assemblies. **Neuron**, v. 50, n. 1, p. 145–57, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.023>
- DUDAI, Y.; KARNI, A.; BORN, J. **The Consolidation and Transformation of Memory**. [S. l.]: Cell Press, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.004>. Acesso em: 1 abr. 2020.
- DÜZEL, E.; PENNY, W. D.; BURGESS, N. **Brain oscillations and memory**. [S. l.]: Curr Opin Neurobiol, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.01.004>. Acesso em: 11 out. 2021.
- EGUÍLUZ, V. M.; CHIALVO, D. R.; CECCHI, G. A.; BALIKI, M.; APKARIAN, A. V. Scale-Free Brain Functional Networks. **Physical Review Letters**, v. 94, n. 1, p. 018102, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.94.018102>
- EINEVOLL, G. T.; LINDÉN, H.; TETZLAFF, T.; ŁĘSKI, S.; PETTERSEN, K. H. **Principles of Neural Coding**. [S. l.]: CRC Press, 2013. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/b14756>
- FADOOL, D. A.; WACHOWIAK, M.; BRANN, J. H. Patch-clamp analysis of voltage-activated and chemically activated currents in the vomeronasal organ of *Sternotherus odoratus* (stinkpot/musk turtle). **The Journal of experimental biology**, v. 204, n. Pt 24, p. 4199–212, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.204.24.4199>
- FELL, J.; AXMACHER, N. The role of phase synchronization in memory processes. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 12, n. 2, p. 105–118, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2979>. Acesso em: 11 set. 2020.
- FERBINTEANU, J. Memory systems 2018 – Towards a new paradigm. **Neurobiology of learning and memory**, v. 157, p. 61–78, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.11.005>. Acesso em: 30 jun. 2021.
- FONT, E. Rapid learning of a spatial memory task in a lacertid lizard (*Podarcis liolepis*). **Behavioural Processes**, v. 169, p. 103963, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2019.103963>. Acesso em: 8 nov. 2019.
- FURINI, C.; MYSKIW, J.; IZQUIERDO, I. **The learning of fear extinction**. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.016>
- FURTUNATO, A. M. B.; LOBÃO-SOARES, B.; TORT, A. B. L.; BELCHIOR, H. Specific

- Increase of Hippocampal Delta Oscillations Across Consecutive Treadmill Runs. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, p. 101, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00101>. Acesso em: 10 set. 2020.
- GAZTELU, J. M.; GARCÍA-AUSTT, E.; BULLOCK, T. H. Electrocorticograms of Hippocampal and Dorsal Cortex of Two Reptiles: Comparison with Possible Mammalian Homologs. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 37, n. 3, p. 144–160, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000114354>. Acesso em: 23 jun. 2020.
- GELINAS, J. Ripples for memory retrieval in humans. **Science (New York, N.Y.)**, v. 363, n. 6430, p. 927–928, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaw6767>. Acesso em: 3 jun. 2020.
- GIACHERO, M.; CALFA, G. D.; MOLINA, V. A. Hippocampal dendritic spines remodeling and fear memory are modulated by GABAergic signaling within the basolateral amygdala complex. **Hippocampus**, v. 25, n. 5, p. 545–555, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hipo.22409>
- GONZÁLEZ, J.; CAVELLI, M.; MONDINO, A.; RUBIDO, N.; TORT, A. B.; TORTEROLO, P. Communication through coherence by means of cross-frequency coupling. **bioRxiv**, p. 2020.03.09.984203, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.03.09.984203>. Acesso em: 21 mar. 2023.
- HAAS, L. F. Hans Berger (1873-1941), Richard Caton (1842-1926), and electroencephalography. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 74, n. 1, p. 9, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.1.9>. Acesso em: 30 ago. 2020.
- HAMPTON, R. R.; SHETTLEWORTH, S. J. Hippocampal lesions impair memory for location but not color in passerine birds. **Behavioral Neuroscience**, v. 110, n. 4, p. 831–835, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/0735-7044.110.4.831>
- HELFRICH, R. F.; KNIGHT, R. T. Cognitive neurophysiology: Event-related potentials. In: **Handbook of Clinical Neurology**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier B.V., 2019. v. 160, p. 543–558. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00036-9>
- HILLYARD, S. A. Event-related potentials (ERPs) and cognitive processing. In: **The Curated Reference Collection in Neuroscience and Biobehavioral Psychology**. [S. l.]: Elsevier Science Ltd., 2016. p. 13–18. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809324-5.02455-X>
- HUANG, C.-C.; LIN, H.-R.; LIANG, Y.-C.; HSU, K.-S. Effects of Neonatal Corticosteroid Treatment on Hippocampal Synaptic Function. **Pediatric Research**, v. 62, n. 3, p. 267–270, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318123f744>
- HÜLSEMANN, M. J.; NAUMANN, E.; RASCH, B. Quantification of phase-amplitude coupling in neuronal oscillations: comparison of phase-locking value, mean vector length, modulation index, and generalized-linear-modeling-cross-frequency-coupling. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, n. JUN, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00573>. Acesso em: 16 set. 2020.
- INGLEBERT, Y.; DEBANNE, D. Calcium and Spike Timing-Dependent Plasticity. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 15, p. 374, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2021.727336/BIBTEX>
- ISOMURA, Y.; SIROTA, A.; ÖZEN, S.; MONTGOMERY, S.; MIZUSEKI, K.; HENZE, D. A.; BUZSÁKI, G. Integration and Segregation of Activity in Entorhinal-Hippocampal Subregions by Neocortical Slow Oscillations. **Neuron**, v. 52, n. 5, p. 871–882, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.10.023>. Acesso em: 29 set. 2020.
- IZQUIERDO, I. Memórias. **Estudos Avançados**, v. 3, n. 6, p. 89–112, 1989. Disponível em:

- <https://doi.org/10.1590/S0103-40141989000200006>
- IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R. G.; MYSKIW, J. C. Fear Memory. **Physiological reviews**, v. 96, n. 2, p. 695–750, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2015>
- IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiology of Learning and Memory**, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/nlme.1997.3799>
- IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H.; VIANNA, M. R. M.; IZQUIERDO, L. A.; BARROS, D. M. **Separate mechanisms for short- and long-term memory**. [S. l.: s. n.] Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00036-4)
- JACOB, T. C.; MOSS, S. J.; JURD, R. GABA(A) receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 9, n. 5, p. 331–343, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/NRN2370>. Acesso em: 24 mar. 2023.
- JARRARD, L. E. On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. **Behavioral and neural biology**, v. 60, n. 1, p. 9–26, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0163-1047\(93\)90664-4](https://doi.org/10.1016/0163-1047(93)90664-4). Acesso em: 14 jun. 2023.
- JENSEN, O.; LISMAN, J. E. Hippocampal sequence-encoding driven by a cortical multi-item working memory buffer. **Trends in Neurosciences**, v. 28, n. 2, p. 67–72, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.12.001>. Acesso em: 16 set. 2020.
- JOHANSEN, J. P.; CAIN, C. K.; OSTROFF, L. E.; LEDOUX, J. E. Molecular Mechanisms of Fear Learning and Memory. **Cell**, v. 147, n. 3, p. 509–524, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.009>. Acesso em: 13 abr. 2020.
- JOHNSON, M. T. J.; MUNSHI-SOUTH, J. **Evolution of life in urban environments**. [S. l.]: American Association for the Advancement of Science, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aam8327>
- JOHNSTON, G. A. R. **Muscimol as an Ionotropic GABA Receptor Agonist**. [S. l.]: Springer New York LLC, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1245-y>. Acesso em: 25 set. 2020.
- JOSSELYN, S. A.; TONEGAWA, S. **Memory engrams: Recalling the past and imagining the future**. [S. l.]: American Association for the Advancement of Science, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaw4325>. Acesso em: 30 jun. 2021.
- KAAS, J. H. **Evolution of nervous systems**. 2 edition ed. [S. l.: s. n.].
- KADIR, L. A.; STACEY, M.; BARRETT-JOLLEY, R. Emerging roles of the membrane potential: Action beyond the action potential. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. NOV, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01661>
- KANDEL, E. R.; SQUIRE, L. R. **Neuroscience: Breaking down scientific barriers to the study of brain and mind**. [S. l.: s. n.] Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1113>
- KANG, F.; GOULET, C. T.; CHAPPLE, D. G. The impact of urbanization on learning ability in an invasive lizard. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 1, p. 55–62, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx131>
- KAPFER, J. Urban Herpetology. 2010.
- KIM, Y.; WOO, J.; WOO, M. Effects of Stress and Task Difficulty on Working Memory and Cortical Networking. **Perceptual and motor skills**, v. 124, n. 6, p. 1194–1210, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0031512517732851>. Acesso em: 24 maio. 2023.
- KNYAZEV, G. G. Motivation, emotion, and their inhibitory control mirrored in brain

- oscillations. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 3, p. 377–395, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.10.004>
- KOZLOWSKA, K.; WALKER, P.; MCLEAN, L.; CARRIVE, P. **Fear and the Defense Cascade: Clinical Implications and Management**. [S. l.: s. n.] Disponível em: <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000065>
- LABRA, A.; BRANN, J. H.; FADOOL, D. A. Heterogeneity of voltage- and chemosignal-activated response profiles in vomeronasal sensory neurons. **Journal of neurophysiology**, v. 94, n. 4, p. 2535–48, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/jn.00490.2005>
- LADAGE, L. D.; MAGED, R. M.; FORNEY, M. V.; ROTH, T. C.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Interaction between territoriality, spatial environment, and hippocampal neurogenesis in male side-blotched lizards. **Behavioral Neuroscience**, v. 127, n. 4, p. 555–565, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/a0032852>. Acesso em: 20 maio. 2020.
- LADAGE, L. D.; RIGGS, B. J.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Dorsal cortex volume in male side-blotched lizards (*Uta stansburiana*) is associated with different space use strategies. **Animal Behaviour**, v. 76, n. 1, p. 211–220, 2012 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9767-z>. Plástid
- LADAGE, L. D.; ROTH, T. C.; CERJANIC, A. M.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Spatial memory: Are lizards really deficient? **Biology Letters**, v. 8, n. 6, p. 939–941, 2012 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0527>
- LADAGE, L. D.; ROTH, T. C.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Environmental experiences influence cortical volume in territorial and nonterritorial side-blotched lizards, *Uta stansburiana*. **Animal Behaviour**, v. 115, p. 11–18, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.01.029>. Acesso em: 20 abr. 2020.
- LAI, J.; LEGAULT, M. A.; THOMAS, S.; CASANOVA, C. Simultaneous electrophysiological recording and micro-injections of inhibitory agents in the rodent brain. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2015, n. 101, p. 52271, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3791/52271>. Acesso em: 30 set. 2020.
- LANUZA, E.; BELEKHOVA, M.; MARTÍNEZ-MARCOS, A.; FONT, C.; MARTÍNEZ-GARCÍA, F. Identification of the reptilian basolateral amygdala: an anatomical investigation of the afferents to the posterior dorsal ventricular ridge of the lizard *Podarcis hispanica*. **The European journal of neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 3517–34, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00363.x>
- LEDOUX, J. E. Evolution of human emotion. A view through fear. *In*: **Progress in Brain Research**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2012. v. 195, p. 431–442. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53860-4.00021-0>
- LEDOUX, J. E. **Coming to terms with fear**. [S. l.]: National Academy of Sciences, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1400335111>
- LEE, D.; LEE, A. K. In vivo patch-clamp recording in awake head-fixed rodents. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2017, n. 4, p. 274–280, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095802>
- LEE, J. H.; LEE, S.; KIM, J.-H. Amygdala Circuits for Fear Memory: A Key Role for Dopamine Regulation. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 23, n. 5, p. 542–553, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1073858416679936>
- LESTING, J.; DALDRUP, T.; NARAYANAN, V.; HIMPE, C.; SEIDENBECHER, T.; PAPE, H.-C. Directional theta coherence in prefrontal cortical to amygdalo-hippocampal

- pathways signals fear extinction. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e77707, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077707>. Acesso em: 1 abr. 2020.
- LÉVESQUE, M.; SHIRI, Z.; CHEN, L. Y.; AVOLI, M. High-frequency oscillations and mesial temporal lobe epilepsy. **Neuroscience Letters**, v. 667, p. 66–74, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.01.047>
- LIKHTIK, E.; JOHANSEN, J. P. Neuromodulation in circuits of aversive emotional learning. **Nature Neuroscience**, v. 22, n. 10, p. 1586–1597, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0503-3>. Acesso em: 1 abr. 2020.
- LÓPEZ-AZCÁRATE, J.; NICOLÁS, M. J.; CORDON, I.; ALEGRE, M.; VALENCIA, M.; ARTIEDA, J. Delta-mediated cross-frequency coupling organizes oscillatory activity across the rat cortico-basal ganglia network. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 7, n. OCT, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00155>. Acesso em: 10 set. 2020.
- LUCHKINA, N. V.; BOLSHAKOV, V. Y. Mechanisms of fear learning and extinction: synaptic plasticity–fear memory connection. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 163–182, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00213-018-5104-4>. Acesso em: 13 mar. 2020.
- MACEDO-LIMA, M.; FREIRE, M. A. M.; DE CARVALHO PIMENTEL, H.; RODRIGUES FERREIRA LINS, L. C.; AMADOR DE LUCENA MEDEIROS, K. A.; VIOLA, G. G.; DOS SANTOS, J. R.; MARCHIORO, M. Characterization of NADPH Diaphorase- and Doublecortin-Positive Neurons in the Lizard Hippocampal Formation. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 88, n. 3–4, p. 222–234, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000453105>. Acesso em: 14 nov. 2019.
- MALIK, R.; DOUGHERTY, K. A.; PARIKH, K.; BYRNE, C.; JOHNSTON, D. Mapping the electrophysiological and morphological properties of CA1 pyramidal neurons along the longitudinal hippocampal axis. **Hippocampus**, v. 26, n. 3, p. 341–361, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hipo.22526>
- MANGER, P. R.; SLUTSKY, D. A.; MOLNÁR, Z. Visual subdivisions of the dorsal ventricular ridge of the Iguana (*Iguana iguana*) as determined by electrophysiologic mapping. **Journal of Comparative Neurology**, v. 453, n. 3, p. 226–246, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cne.10373>
- MANTEGAZZA, M. Epilepsy: Advances in genetics and pathophysiology. **Neuroscience Letters**, v. 667, n. October 2017, p. 1–3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.10.026>
- MARCHIORO, M. *et al.* Postnatal neurogenesis in the medial cortex of the tropical lizard *Tropidurus hispidus*. **Neuroscience**, v. 134, n. 2, p. 407–413, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.04.014>. Acesso em: 14 nov. 2019.
- MARCHIORO, M.; DE CARVALHO PIMENTEL, H.; LEITE SANTOS, M.; MACÊDO-LIMA, M.; DOS SANTOS, J. R.; PONSODA, X.; MOLOWNY, A.; LOPEZ-GARCIA, C. Low temperature-acclimation impairs cellular migration in the adult cerebral cortex of the tropical lizard, *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) (Squamata: Tropiduridae). **Archives Italiennes de Biologie**, v. 150, n. 1, p. 22–30, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4449/aib.v149i5.1381>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- MARTIN, S. J.; GRIMWOOD, P. D.; MORRIS, R. G. M. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. **Annual review of neuroscience**, v. 23, p. 649–711, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NEURO.23.1.649>. Acesso em: 24 mar. 2023.
- MARTÍNEZ-GARCÍA, F.; AMIGUET, M.; OLUCHA, F.; LOPEZ-GARCIA, C. Connections

- of the lateral cortex in the lizard *Podarcis hispanica*. **Neuroscience Letters**, v. 63, n. 1, p. 39–44, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90009-1](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90009-1). Acesso em: 12 ago. 2020.
- MARTÍNEZ-GARCÍA, F.; MARTÍNEZ-MARCOS, A.; LANUZA, E. The pallial amygdala of amniote vertebrates: evolution of the concept, evolution of the structure. *In*: 2002, **Brain Research Bulletin**. : Brain Res Bull, 2002. p. 463–469. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00665-7](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00665-7). Acesso em: 12 ago. 2020.
- MCGAUGH, J. L. Memory--a Century of Consolidation. **Science**, v. 287, n. 5451, p. 248–251, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.287.5451.248>. Acesso em: 1 abr. 2020.
- MEDEIROS, K. A. A. . **NITRÉRGICOS EM RESPOSTA À EXPOSIÇÃO DO LAGARTO NEOTROPICAL *Tropidurus hispidus* (SPIX , 1825) A UM ESTÍMULO AVERSIVO : ENVOLVIMENTO DE VIAS**. 2019. - orientador Murilo Marchioro; Tese (doutorado em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal de Sergipe, [s. l.], 2019.
- MELLEU, F. F.; SANTOS, T. S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. Distribution and characterization of doublecortin-expressing cells and fibers in the brain of the adult pigeon (*Columba livia*). **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 47, p. 57–70, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2012.10.006>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- METZ, G. A. Stress as a modulator of motor system function and pathology. **Reviews in the neurosciences**, v. 18, n. 3–4, p. 209–22, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/revneuro.2007.18.3-4.209>
- MEYER, L.; GRIGUTSCH, M.; SCHMUCK, N.; GASTON, P.; FRIEDERICI, A. D. Frontal-posterior theta oscillations reflect memory retrieval during sentence comprehension. **Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior**, v. 71, p. 205–18, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.06.027>. Acesso em: 2 jun. 2020.
- MORMANN, F.; FELL, J.; AXMACHER, N.; WEBER, B.; LEHNERTZ, K.; ELGER, C. E.; FERNÁNDEZ, G. Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. **Hippocampus**, v. 15, n. 7, p. 890–900, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hipo.20117>. Acesso em: 11 set. 2020.
- MUNIA, T. T. K.; AVIYENTE, S. Time-Frequency Based Phase-Amplitude Coupling Measure For Neuronal Oscillations. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 12441, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48870-2>. Acesso em: 16 set. 2020.
- MUTHUKRISHNAN, S. P.; SONI, S.; SHARMA, R. Brain Networks Communicate Through Theta Oscillations to Encode High Load in a Visuospatial Working Memory Task: An EEG Connectivity Study. **Brain Topography**, v. 33, n. 1, p. 75–85, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10548-019-00739-3>
- NABAVI, S.; FOX, R.; PROULX, C. D.; LIN, J. Y.; TSIEN, R. Y.; MALINOW, R. Engineering a memory with LTD and LTP. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 348–352, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature13294>
- NAIM, M.; KATKOV, M.; ROMANI, S.; TSODYKS, M. Fundamental Law of Memory Recall. **Physical Review Letters**, v. 124, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.124.018101>
- NAUMANN, R. K.; LAURENT, G. Function and Evolution of the Reptilian Cerebral Cortex. *In*: **Evolution of Nervous Systems**. Second Edi ed. [S. l.]: Elsevier, 2017. v. 1–4, p.

- 491–518. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804042-3.00022-1>. Acesso em: 21 abr. 2020.
- NAUMANN, R. K.; ONDRACEK, J. M.; REITER, S.; SHEIN-IDELSON, M.; TOSCHES, M. A.; YAMAWAKI, T. M.; LAURENT, G. The reptilian brain. **Current biology**, v. 25, n. 8, p. 317–21, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.02.049>
- NEVES, G.; COOKE, S. F.; BLISS, T. V. P. **Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: A neural network approach to causality**. [S. l.]: Nat Rev Neurosci, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2303>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- NOBLE, D. W. A.; BYRNE, R. W.; WHITING, M. J. Age-dependent social learning in a lizard. **Biology Letters**, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0430>
- NOBLE, D. W. A.; CARAZO, P.; WHITING, M. J. Learning outdoors: Male lizards show flexible spatial learning under semi-natural conditions. **Biology Letters**, v. 8, n. 6, p. 946–948, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0813>
- NORIMOTO, H. *et al.* A claustrum in reptiles and its role in slow-wave sleep. **Nature**, v. 578, n. 7795, p. 413–418, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1993-6>. Acesso em: 23 jun. 2020.
- NORTHCUTT, R. G.; BUTLER, A. B. Evolution of reptilian visual systems: Retinal projections in a nocturnal lizard, *Gekko gekko* (Linnaeus). **Journal of Comparative Neurology**, v. 157, n. 4, p. 453–465, 1974.
- NURDAL, V.; FAIRCHILD, G.; STOTHART, G. The effect of repetition priming on implicit recognition memory as measured by Fast Periodic Visual Stimulation and EEG. **International journal of psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology**, v. 161, p. 44–52, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJPSYCHO.2021.01.009>. Acesso em: 23 fev. 2022.
- OLCAY, B. O.; KARAÇALI, B. Evaluation of synchronization measures for capturing the lagged synchronization between EEG channels: A cognitive task recognition approach. **Computers in Biology and Medicine**, v. 114, n. May, p. 103441, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2019.103441>
- OLIVEIRA, J. C. F.; PEREIRA-RIBEIRO, J.; WINCK, G. R.; ROCHA, C. F. D. Lizard assemblages on sandy coastal plains in southeastern Brazil: An analysis of occurrence and composition, and the role of habitat structure. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170403>
- OP DE BEECK, H.; NAKATANI, C. Electrophysiological Neuroimaging. *In: Introduction to Human Neuroimaging*. [S. l.]: Cambridge University Press, 2019. p. 191–192. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/9781316847916.012>
- PALVA, S.; PALVA, J. M. Discovering oscillatory interaction networks with M/EEG: challenges and breakthroughs. **Trends in cognitive sciences**, v. 16, n. 4, p. 219–230, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TICS.2012.02.004>. Acesso em: 21 mar. 2023.
- PALVA, S.; PALVA, J. M. Roles of Brain Criticality and Multiscale Oscillations in Temporal Predictions for Sensorimotor Processing. **Trends in Neurosciences**, v. 41, n. 10, p. 729–743, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.08.008>. Acesso em: 26 out. 2020.
- PARRIS, K. M. **Ecology of Urban Environments**. [S. l.: s. n.]. *E-book*. Disponível em: https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=CU0gDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&ots=5AhTqf7BS&sig=tEFMTOMwb0Yg_2p6RU2BYTCokhs. Acesso em: 27 mar. 2020.

- PIMENTEL, H. de C.; DOS SANTOS, J. R.; MACÊDO-LIMA, M.; DE ALMEIDA, F. T. C.; SANTOS, M. L.; MOLOWNY, A.; PONSODA, X.; LOPEZ-GARCIA, C.; MARCHIORO, M. Structural organization of the cerebral cortex of the neotropical lizard *Tropidurus hispidus*. **Cell and Tissue Research**, v. 343, n. 2, p. 319–330, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00441-010-1097-y>
- PIMENTEL, H. de C.; MACÊDO-LIMA, M.; VIOLA, G. G.; MELLEU, F. F.; DOS SANTOS, T. S.; FRANCO, H. S.; DA SILVA, R. dos S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINONETO, J.; DOS SANTOS, J. R.; MARCHIORO, M. Telencephalic distributions of doublecortin and glial fibrillary acidic protein suggest novel migratory pathways in adult lizards. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 112, p. 101901, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2020.101901>. Acesso em: 22 dez. 2020.
- RAGHAVAN, M.; FEE, D.; BARKHAUS, P. E. Generation and propagation of the action potential. In: **Handbook of Clinical Neurology**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier B.V., 2019. v. 160, p. 3–22. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00001-1>
- RAMA, S.; ZBILI, M.; DEBANNE, D. Signal propagation along the axon. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 51, p. 37–44, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.02.017>
- RAMSAY, J. O. **Functional Data Analysis MATLAB code**. [s. l.], 2022. Disponível em: https://github.com/jdtuck/fdasrvf_MATLAB. Acesso em: 18 jan. 2023.
- RAMSAY, J. O. .; SILVERMAN, B. W. . Functional Data Analysis. [s. d.].
- RAMSAY, J. O.; SILVERMAN, B. W. Functional Data Analysis. New York, NY, Springer Series in Statistics, 1997 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-7107-7>. Acesso em: 18 maio. 2023.
- RAMSAY, J. O.; SILVERMAN, B. W. Principal components analysis for functional data. p. 85–109, 1997 b. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-7107-7_6
- REINER, A.; KARTEN, H. J. Comparison of olfactory bulb projections in pigeons and turtles. **Brain, Behavior and Evolution**, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000118717>
- ROBERTS, W. A. **The role of context in animal memory**. [S. l.]: Springer New York LLC, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3758/s13420-019-00380-x>. Acesso em: 1 abr. 2020.
- ROELOFS, K. Freeze for action: neurobiological mechanisms in animal and human freezing. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 372, n. 1718, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0206>
- ROOZENDAAL, B.; MCEWEN, B. S.; CHATTARJI, S. Stress, memory and the amygdala. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 423–433, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/NRN2651>. Acesso em: 24 mar. 2023.
- ROTH, T. C.; LADAGE, L. D.; FREAS, C. A.; PRAVOSUDOV, V. V. Variation in memory and the hippocampus across populations from different climates: a common garden approach. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 279, n. 1727, p. 402–410, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1020>. Acesso em: 20 maio. 2020.
- ROTH, T. C.; PRAVOSUDOV, V. V. Hippocampal volumes and neuron numbers increase along a gradient of environmental harshness: A large-scale comparison. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 276, n. 1656, p. 401–405, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1184>
- ROUTH, B. N.; JOHNSTON, D.; HARRIS, K.; CHITWOOD, R. A. Anatomical and

- electrophysiological comparison of CA1 pyramidal neurons of the rat and mouse. **Journal of neurophysiology**, v. 102, n. 4, p. 2288–2302, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/JN.00082.2009>. Acesso em: 18 maio. 2023.
- SAGASPE, P.; SCHWARTZ, S.; VUILLEUMIER, P. Fear and stop: A role for the amygdala in motor inhibition by emotional signals. **NeuroImage**, v. 55, n. 4, p. 1825–1835, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.01.027>
- SAH, P.; FABER, E. S.; LOPEZ DE ARMENTIA, M.; POWER, J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. **Physiological reviews**, v. 83, n. 3, p. 803–834, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2003>
- SANTIAGO, RAMÓN ; CAJAL, S. Estructura del asta de Ammon y fascia dentata. **An. Soc. Esp. Hist. Nat.**, 1893.
- SANTOS, E. L. **PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX DORSAL REPTILIANO NOS PROCESSOS DE AQUISIÇÃO, CONSOLIDAÇÃO E EVOCÇÃO DA MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825)**. 2018. - Universidade Federal de Sergipe, [s. l.], 2018.
- SANTOS, H. F. **PARTICIPAÇÃO DO HIPOCAMPO REPTILIANO NOS PROCESSOS DE MEMÓRIA AVERSIVA: UM ESTUDO ELETROFISIOLÓGICO**. 2021. - Universidade Federal de Sergipe, [s. l.], 2021.
- SANTOS, L. de G. **AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E NEUROBIOLÓGICA DA MEMÓRIA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus* (SPIX, 1825; SQUAMATA: TROPIDURIDAE)**. 2016. - Universidade Federal de Sergipe, [s. l.], 2016.
- SAUSENG, P.; KLIMESCH, W.; SCHABUS, M.; DOPPELMAYR, M. Fronto-parietal EEG coherence in theta and upper alpha reflect central executive functions of working memory. *In*: 2005, **International Journal of Psychophysiology**. : Int J Psychophysiol, 2005. p. 97–103. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2005.03.018>. Acesso em: 26 out. 2020.
- SCHACTER, D. L. Constructive memory: Past and future. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 14, n. 1, p. 7–18, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.31887/dens.2012.14.1/dschacter>. Acesso em: 30 jun. 2021.
- SCHEITHAUER, M.; SCHEBELL, S. M.; MEVERS, J. L.; MARTIN, C. P.; NOELL, G.; SUITER, K. C.; CALL, N. A. A comparison of sources of baseline data for treatments of problem behavior following a functional analysis. **Journal of Applied Behavior Analysis**, p. jaba.549, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jaba.549>
- SCHULTHEISS, N. W.; SCHLECHT, M.; JAYACHANDRAN, M.; BROOKS, D. R.; MCGLOTHAN, J. L.; GUILARTE, T. R.; ALLEN, T. A. Awake delta and theta-rhythmic hippocampal network modes during intermittent locomotor behaviors in the rat. **Behavioral neuroscience**, p. 866962, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/bne0000409>. Acesso em: 10 set. 2020.
- SCHURGIN, M. W.; FLOMBAUM, J. I. Visual working memory is more tolerant than visual long-term memory. **Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance**, v. 44, n. 8, p. 1216–1227, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/xhp0000528>
- SENZAI, Y.; BUZSÁKI, G. Physiological Properties and Behavioral Correlates of Hippocampal Granule Cells and Mossy Cells. **Neuron**, v. 93, n. 3, p. 691- 704.e5, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.011>
- SHANBHAG, B. A.; AMMANNA, V. H. F.; SAIDAPUR, S. K. Associative learning in hatchlings of the lizard *Calotes versicolor*: Taste and colour discrimination. **Amphibia Reptilia**, v. 31, n. 4, p. 475–481, 2010. Disponível em:

- <https://doi.org/10.1163/017353710X518432>
- SHEIN-IDELSON, M.; ONDRACEK, J. M.; LIAW, H. P.; REITER, S.; LAURENT, G. Slow waves, sharp waves, ripples, and REM in sleeping dragons. **Science**, v. 352, n. 6285, p. 590–595, 2016 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaf3621>
- SHEIN-IDELSON, M.; ONDRACEK, J. M.; LIAW, H.; REITER, S.; LAURENT, G. Slow waves, sharp waves, ripples, and REM in sleeping dragons. **Science (New York, N.Y.)**, v. 352, n. 6285, p. 590–5, 2016 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaf3621>
- SHEN, W.; MCKEOWN, C. R.; DEMAS, J. A.; CLINE, H. T. Inhibition to excitation ratio regulates visual system responses and behavior in vivo. **Journal of Neurophysiology**, v. 106, n. 5, p. 2285–2302, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/jn.00641.2011>
- SHETTLEWORTH, S. **Cognition, Evolution, and Behavior**. [S. l.: s. n.].
- SHOCHAT, E.; LERMAN, S. B.; ANDERIES, J. M.; WARREN, P. S.; FAETH, S. H.; NILON, C. H. Invasion, Competition, and Biodiversity Loss in Urban Ecosystems. **BioScience**, v. 60, n. 3, p. 199–208, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.3.6>. Acesso em: 27 mar. 2020.
- SIEGEL, M.; DONNER, T. H.; ENGEL, A. K. **Spectral fingerprints of large-scale neuronal interactions**. [S. l.]: Nat Rev Neurosci, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn3137>. Acesso em: 29 out. 2020.
- SILVA, M. P.; RODRIGUES, C. G.; VARANDA, W. A.; NOGUEIRA, R. A. Memory in Ion Channel Kinetics. **Acta Biotheoretica**, v. 69, n. 4, p. 697–722, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10441-021-09415-1>
- SINGER, W. Neuronal oscillations: unavoidable and useful? **European Journal of Neuroscience**, v. 48, n. 7, p. 2389–2398, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ejn.13796>. Acesso em: 4 jun. 2020.
- SMEETS, W. J. A. J.; HOOGLAND, P. V.; LOHMAN, A. H. M. A forebrain atlas of the lizard gekko gekko. **Journal of Comparative Neurology**, v. 254, n. 1, p. 1–19, 1986.
- SOLOMON, O. M. PSD Computations Using Welch ' s Method. n. December, 1991.
- SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *In*: 2004, **Neurobiology of Learning and Memory**. : Academic Press, 2004. p. 171–177. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- SQUIRE, L. R.; STARK, C. E. L.; CLARK, R. E. The medial temporal lobe. **Annual review of neuroscience**, v. 27, p. 279–306, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144130>
- STEENLAND, H. W.; LI, X. Y.; ZHUO, M. Predicting Aversive Events and Terminating Fear in the Mouse Anterior Cingulate Cortex during Trace Fear Conditioning. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 3, p. 1082–1095, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5566-11.2012>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- STRIEDTER, G. F. Evolution of the hippocampus in reptiles and birds. **The Journal of comparative neurology**, v. 524, n. 3, p. 496–517, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cne.23803>. Acesso em: 8 nov. 2019.
- SUZUKI, I. K.; HIRATA, T. A common developmental plan for neocortical gene-expressing neurons in the pallium of the domestic chicken Gallus gallus domesticus and the Chinese softshell turtle Pelodiscus sinensis. **Frontiers in Neuroanatomy**, v. 8, n. April, p. 20, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00020>
- SYMANSKI, C. A.; BLADON, J. H.; KULLBERG, E. T.; JADHAV, S. P. Neural coordination mechanisms for associative memory recall and decision making in the hippocampal-

- prefrontal network. **bioRxiv**, p. 2020.06.08.140939, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.140939>. Acesso em: 24 jun. 2020.
- TAVARES, L. C. S.; TORT, A. B. L. Hippocampal-prefrontal interactions during spatial decision-making. **Hippocampus**, v. 32, n. 1, p. 38–54, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/HIPO.23394>. Acesso em: 16 mar. 2023.
- TIMO-IARIA, C.; PEREIRA, W. C. Mecanismos das ondas elétricas cerebrais. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 29, n. 2, p. 131–145, 1971.
- TINGLEY, D.; ALEXANDER, A. S.; QUINN, L. K.; CHIBA, A. A.; NITZ, D. Multiplexed oscillations and phase rate coding in the basal forebrain. **Science Advances**, v. 4, n. 8, p. eaar3230–eaar3230, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar3230>
- TODOROVA, R.; ZUGARO, M. Isolated cortical computations during delta waves support memory consolidation. **Science**, v. 366, n. 6463, p. 377–381, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aay0616>. Acesso em: 23 jul. 2020.
- TORT, A. B. L.; KOMOROWSKI, R.; EICHENBAUM, H.; KOPELL, N. Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. **Journal of Neurophysiology**, v. 104, n. 2, p. 1195–1210, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/jn.00106.2010>
- TORT, A. B. L.; KOMOROWSKI, R. W.; MANNS, J. R.; KOPELL, N. J.; EICHENBAUM, H. Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 49, p. 20942–7, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0911331106>. Acesso em: 16 set. 2020.
- TORTELLA-FELIU, M.; MORILLAS-ROMERO, A.; BALLE, M.; LLABRÉS, J.; BORNAS, X.; PUTMAN, P. Spontaneous EEG activity and spontaneous emotion regulation. **International Journal of Psychophysiology**, v. 94, n. 3, p. 365–372, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2014.09.003>
- TOSCHES, M. A.; YAMAWAKI, T. M.; NAUMANN, R. K.; JACOBI, A. A.; TUSHEV, G.; LAURENT, G. Evolution of pallium, hippocampus, and cortical cell types revealed by single-cell transcriptomics in reptiles. **Science**, v. 360, n. 6391, p. 881–888, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAR4237/SUPPL_FILE/AAR4237_TOSCHES_S M.PDF. Acesso em: 11 jul. 2022.
- TROYER, M. D.; BLANTON, M. G.; KRIEGSTEIN, A. R. Abnormal Action-Potential Bursts and Synchronized, GABA-Mediated Inhibitory Potentials in an In Vitro Model of Focal Epilepsy. **Epilepsia**, v. 33, n. 2, p. 199–212, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1992.tb02308.x>
- TSVETKOV, E. A.; KRASNOSHCHKOVA, E. I.; VESSELKIN, N. P.; KHARAZOVA, A. D. Amygdala: Neuroanatomy and Neurophysiology of Fear. **Zhurnal evoliutsionnoi biokhimii i fiziologii**, v. 51, n. 6, p. 406–418, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0022093015060022>
- VALENCIA, A. L.; FROESE, T. What binds us? Inter-brain neural synchronization and its implications for theories of human consciousness. **Neuroscience of Consciousness**, v. 2020, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nc/niaa010>. Acesso em: 16 set. 2020.
- VAZ, A. P.; INATI, S. K.; BRUNEL, N.; ZAGHLOUL, K. A. Coupled ripple oscillations between the medial temporal lobe and neocortex retrieve human memory. **Science**, v. 363, n. 6430, p. 975–978, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aau8956>

- WASSERMAN, E. A.; MILLER, R. R. What's elementary about associative learning? **Annual Review of Psychology**, v. 48, p. 573–607, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.48.1.573>. Acesso em: 30 jun. 2021.
- WEAVER, K. E.; WANDER, J. D.; KO, A. L.; CASIMO, K.; GRABOWSKI, T. J.; OJEMANN, J. G.; DARVAS, F. Directional patterns of cross frequency phase and amplitude coupling within the resting state mimic patterns of fMRI functional connectivity. **NeuroImage**, v. 128, p. 238–251, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.12.043>
- WIANDA, E.; ROSS, B. The roles of alpha oscillation in working memory retention. **Brain and Behavior**, v. 9, n. 4, p. 1–21, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/brb3.1263>
- WILMOT, J. H.; PUHGER, K.; WILTGEN, B. J. Acute disruption of the dorsal hippocampus impairs the encoding and retrieval of trace fear memories. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2019.00116/PDF>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- YANG, C.; LI, L.; KOU, Z.; ZHANG, H.; WANG, L.; ZHAO, Y.; ZHU, N. Telencephalon Cytoarchitecture of tsinling dwarf skinks (*Scincella tsinlingensis*). **Micron**, v. 130, p. 102799, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MICRON.2019.102799>
- YI, Y.; BILLOR, N.; LIANG, M.; CAO, X.; EKSTROM, A.; ZHENG, J. Classification of EEG signals: An interpretable approach using functional data analysis. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 376, p. 109609, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2022.109609>
- ZARRABIAN, S.; NASEHI, M.; FARRAHIZADEH, M.; ZARRINDAST, M. R. The role of CA3 GABAB receptors on anxiolytic-like behaviors and avoidance memory deficit induced by D-AP5 with respect to Ca²⁺ ions. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 79, n. Pt B, p. 515–524, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2017.08.007>. Acesso em: 5 jan. 2023.
- ZHANG, Q.; VAN VUGT, M.; BORST, J. P.; ANDERSON, J. R. Mapping working memory retrieval in space and in time: A combined electroencephalography and electrocorticography approach. **NeuroImage**, v. 174, p. 472–484, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.039>. Acesso em: 2 jun. 2020.
- ZOVKIC, I. B.; GUZMAN-KARLSSON, M. C.; SWEATT, J. D. **Epigenetic regulation of memory formation and maintenance**. [*S. I.*]: Learn Mem, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/lm.026575.112>. Acesso em: 14 jun. 2021.

APÊNDICE 1

Esse apêndice foi criado para aportar esclarecimentos acerca de parâmetros e funções declaradas nos métodos.

Aqui, iniciamos com a apresentação do número de movimentos realizados pelos lagartos:

Para essa análise foram considerados os movimentos horizontais e de lateralização da cabeça, movimentos completos de esquiva (afastar-se do gato ou da gaiola) ou de reconhecimento (aproximando-se do gato ou da gaiola) e movimentos de contração ou relaxamento dos membros. Veja a figura representativa (Figura 45).

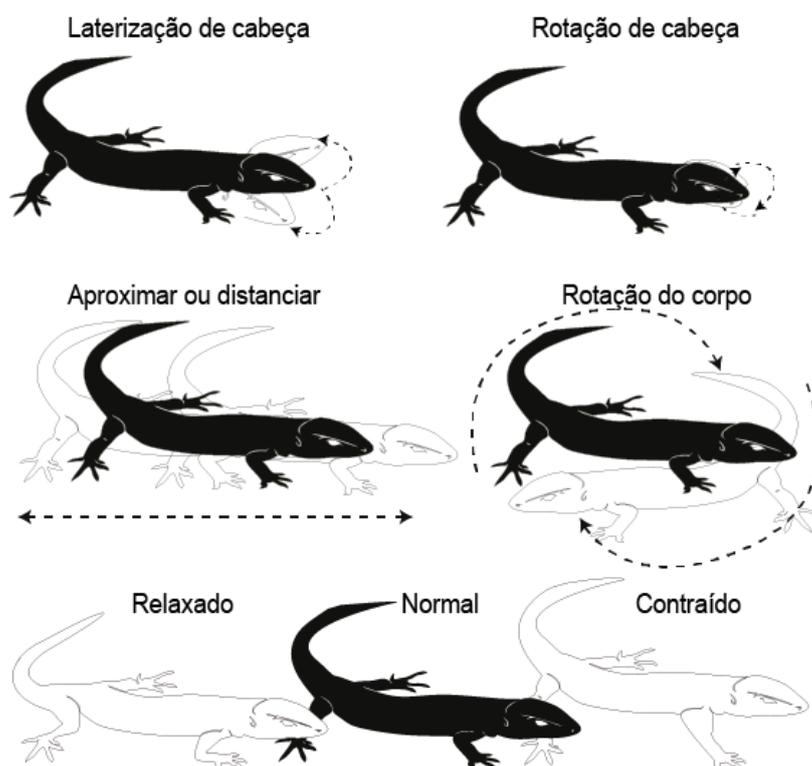


Figura 45 - Descrição dos tipos de movimentos motores do lagarto *Tropidurus hispidus*

Por expectativa, os grupos devem apresentar a distribuição dos movimentos diferentes da ambientação para a exposição, considerado que o número de movimentos deveria ser reduzido quando expostos ao gato, afim de não despertar o interesse da ameaça/predador.

Observamos que o grupo MUS_AQ não apresentou um desempenho satisfatório, mantendo números altos de movimento. Todos os outros grupos reduziram o número de movimentos durante a exposição.

Uma análise avaliando o número de movimentos na ambientação, seguindo os mesmos parâmetros do congelamento, apresentou efeito de do processo de memória ($F(2, 11,24) = 4,46$, $p = 0,03$, $\sigma = 0,23$). Outra análise, foi feita para avaliar o número de movimentos na exposição, em que o efeito foi observado para o grupo ($F(2, 12,59) = 7,13$, $p = 0,029$, $\sigma = 0,41$) e processos de memória $F(1, 12,59) = 22,79$, $p = 0,0001$, $\sigma = 0,76$). O grupo que mais realizou movimentos foi o MUS_AQ comparado aos outros, tanto no treino quanto no teste para a condição de exposição (Figura 46).

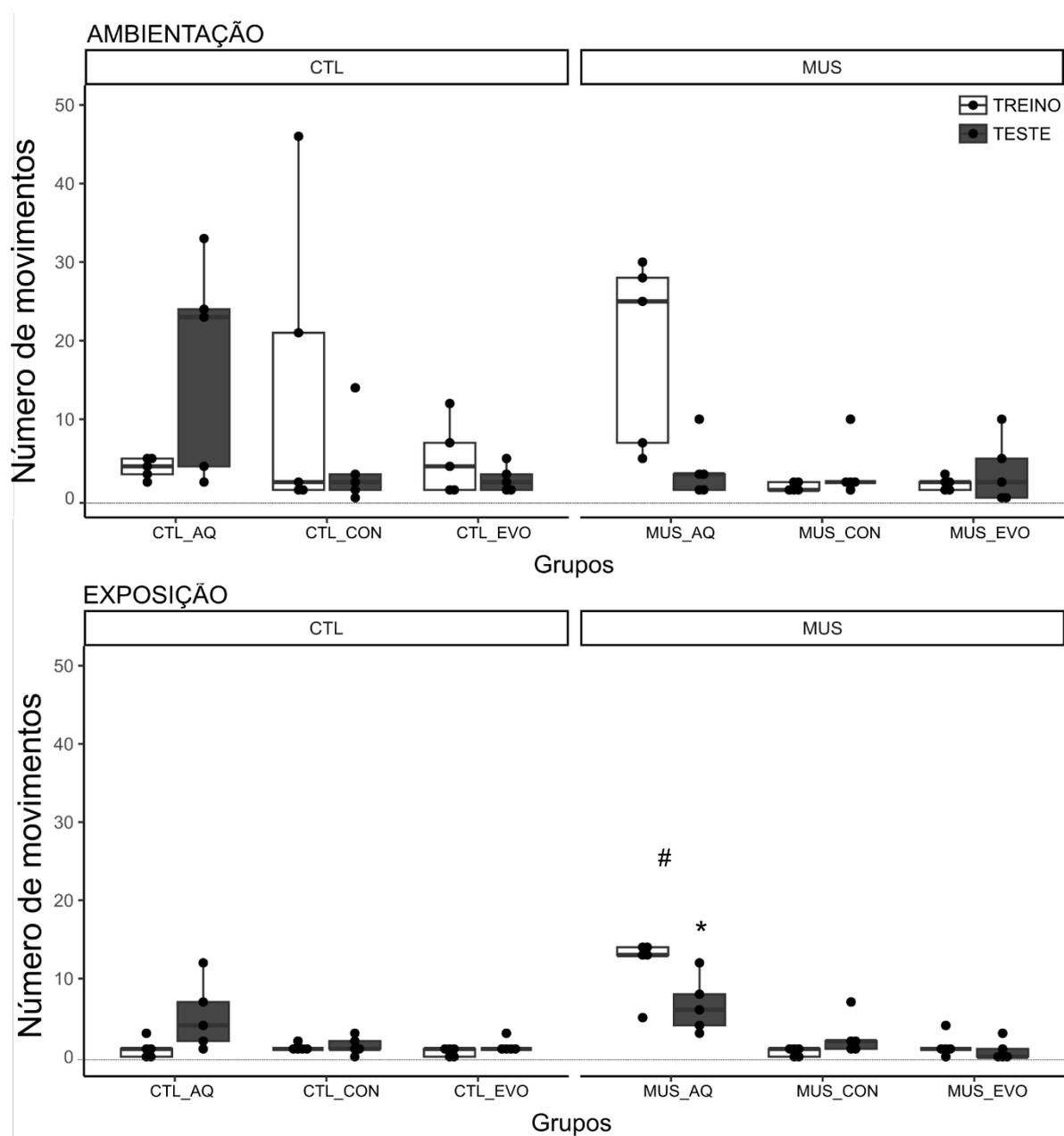


Figura 46 - Número de movimentos realizados na ambientação (AMB) e exposição (EXP). Foi realizada ANOVA de duas vias para avaliar o efeito da condição (treino e teste) e dos grupos (controle (CTL) e muscimol (MUS)), durante os processos de aquisição (CTL_AQ e MUS_AQ), consolidação (CTL_CON e MUS_CON) e evocação (CTL_EVO e MUS_EVO). A análise de pós-teste de Tukey, mostrou que o grupo MUS_AQ apresentou maior número de movimentos comparado aos outros grupos (#) e no treino contra o teste (*).

APÊNDICE 2

Aqui, declaramos sobre os parâmetros utilizados nas funções de análise eletrofisiológica. Com base nos movimentos, avaliamos quando foi necessário remover trechos do sinal em que a informação foi perdida.

Para as **análises de dados funcionais** foram utilizados os seguintes parâmetros:

1. Número de bases (200): Este é o número de funções de base usadas para criar a representação suavizada da curva. Ao ajustar os dados a um modelo de função de base, estamos basicamente tentando representar nossos dados como uma combinação de funções de base (como polinômios, splines, etc.). O número de funções de base define o número máximo de características distintas que o modelo pode capturar nos dados. Escolher o número certo de bases é essencial: muito poucas podem não capturar adequadamente a complexidade dos dados, enquanto muitas podem resultar em overfitting.
2. Ordem das bases (4): Este é o grau das funções de base usadas. Por exemplo, se você está usando funções de base polinomiais, uma ordem de 4 significaria que a função de base mais complexa usada seria um polinômio de quarto grau.
3. Mínimo de número harmônicos (2): Este é o número mínimo de harmônicos usados na análise. Na análise harmônica, que é um tipo de análise de séries temporais, os harmônicos são funções sinusoidais usadas para decompor a série temporal em componentes de frequência diferentes.
4. Taxa de amostragem (600 Hz): Este é o número de amostras coletadas por segundo. Uma taxa de amostragem mais alta pode capturar mais detalhes do sinal, mas também pode levar a mais ruído e requer mais recursos computacionais.
5. Lambda (1e-6): Este é um parâmetro de suavização. A suavização é usada para reduzir o ruído nos dados. Um lambda maior levará a uma suavização maior (isto é, uma curva mais "suave"), enquanto um lambda menor resultará em menos suavização. A escolha do lambda pode ser um equilíbrio entre reduzir o ruído e preservar os detalhes dos dados.

Sobre o **eegfilt** da biblioteca EEGLAB:

A função **eegfilt** é usada para aplicar um filtro digital (FIR) de passagem de banda, passagem alta ou passagem baixa aos dados EEG. Com essa função, você pode especificar a faixa de frequências que deseja isolar e, em seguida, a função **eegfilt** aplica o filtro apropriado para remover as frequências fora dessa faixa.

Por exemplo, se você estiver interessado em examinar a atividade na banda de frequência alfa (1-4 Hz), você pode usar a função **eegfilt** para remover todas as frequências que não estão nessa faixa. Isso pode ser útil para reduzir o ruído e isolar sinais de interesse.

Sobre a análise da transformada de **Hilbert**:

O principal benefício da Transformada de Hilbert é que ela permite a obtenção da forma analítica de um sinal. A forma analítica de um sinal é uma representação complexa que inclui informações tanto de amplitude (ou envelope) quanto de fase do sinal. Esta forma analítica é composta pelo sinal original mais a sua transformada de Hilbert, o que efetivamente produz um sinal complexo.

A Transformada de Hilbert pode ser usada para extrair a amplitude instantânea e a fase de um sinal de várias maneiras:

1. Amplitude Instantânea: A amplitude instantânea (ou envelope) de um sinal é o módulo do sinal analítico. Esta é a distância entre a origem e o ponto no plano complexo que corresponde ao sinal analítico em um determinado momento.
2. Fase Instantânea: A fase instantânea é a função arco tangente da parte imaginária dividida pela parte real do sinal analítico. Este valor indica a fase do sinal em um determinado momento.

A função de filtragem, com o **eegfilt** do EEGLAB, combinada com a Transformada de Hilbert, pode ser usada para analisar a atividade oscilatória em uma faixa específica de frequências. A ideia é primeiramente filtrar o sinal na faixa de frequência de interesse (por exemplo, a banda delta, teta, alfa, beta ou gama em EEG) e então aplicar a Transformada de Hilbert ao sinal filtrado para extrair a amplitude instantânea e a fase do sinal naquela faixa de frequência. Esta combinação permite a análise detalhada da dinâmica do sinal em diferentes bandas de frequência.

Para as análises de **espectro de densidade de potência** e magnitude de **coerência**:

Para o espectro de densidade de potência com base na função de Welch (*pwelch*), foram utilizados os seguintes parâmetros:

A função de Welch é uma técnica utilizada para estimar a densidade espectral de potência (*power spectrum density* - PSD) de um sinal. A PSD é uma função matemática que descreve como a potência de um sinal é distribuída com a frequência. A função de Welch melhora a estimativa da PSD calculando a PSD de segmentos separados do sinal e depois tirando a média dessas estimativas. Essa técnica reduz o erro na estimativa da PSD.

Os principais parâmetros da função de Welch são:

1. Tamanho da janela ($\text{window} = 5 * \text{srate}$): este é o tamanho dos segmentos em que o sinal é dividido para calcular a PSD. Escolher o tamanho da janela apropriado é importante, pois um tamanho de janela muito grande pode não capturar variações rápidas na PSD, enquanto um tamanho de janela muito pequeno pode resultar em uma estimativa de PSD mais ruidosa.
2. Sobreposição ($\text{overlap} = \text{window} * 0,2$): este é o número de pontos que cada segmento de janela se sobrepõe com o próximo, o que significa que cada segmento se sobrepõe com o próximo em 20% do tamanho da janela. Ter overlap é útil para minimizar o efeito de janela, que ocorre quando a PSD é calculada sobre segmentos discretos do sinal.
3. $\text{nfft} = 2^{13}$: este é o número de pontos usados no cálculo da transformada de Fourier. O número de pontos na transformada de Fourier pode afetar a resolução da estimativa da PSD.
4. Taxa de amostragem ($\text{srate} = 600 \text{ Hz}$): a frequência de amostragem do sinal.

Por fim, a análise de coerência utilizou a função *mscohere* para sistematizar a magnitude da coerência numa faixa de frequências, no nosso caso, entre 1 a 55 Hz. A magnitude é normalizada para restringir os valores de 0 a 1, onde zero é coerência zero e 1 coerência total.

Parâmetros para as análises de **acoplamento fase-fase e fase-amplitude**:

Análise de **Frequência de Fase (VFF)**:

Vetor de frequências lentas (1 a 10 Hz): Este é o intervalo de frequências consideradas "lentas" para a análise. Essas frequências são geralmente associadas a ritmos cerebrais como o delta e o teta.

Vetor de frequências rápidas (10 a 50 Hz): Este é o intervalo de frequências consideradas "rápidas" para a análise. Frequências nessa faixa são tipicamente associadas a ritmos cerebrais como o alfa, beta e gama.

Largura da banda de fase lenta (3 Hz): A largura de banda é definida para incrementar a largura de banda para avaliar a modulação a partir do vetor de frequências lentas. Neste caso, refere-se ao intervalo de frequências em torno das frequências "lentas" que estão sendo consideradas na análise.

Largura da banda de fase rápida (10 Hz): Semelhante à largura da banda de fase lenta, mas para as frequências "rápidas".

Análise de **Acoplamento de Fase-Amplitude**:

Vetor de fase (1 a 10 Hz): Este é o intervalo de frequências para as quais a fase do sinal será analisada.

Vetor de amplitude (10 a 50 Hz): Este é o intervalo de frequências para as quais a amplitude do sinal será analisada.

Comprimento de banda de fase (3 Hz): Este é o intervalo de frequências em torno das frequências para as quais a fase está sendo analisada.

Banda de amplitude (5 Hz): Este é o intervalo de frequências em torno das frequências para as quais a amplitude está sendo analisada.

ANEXOS A



Universidade
Federal de
Sergipe

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE OS CÓRTICES DORSO-MEDIAL E LATERAL NOS PROCESSOS DE MEMÓRIA DO LAGARTO TROPICAL *Tropidurus hispidus*", protocolada sob o CEUA nº 2285290621 (ID 000426), sob a responsabilidade de **José Ronaldo dos Santos e equipe; Heitor Franco Santos; João Eduardo Conceição Melo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 24/11/2021.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE INTERACTION BETWEEN THE DORSO-MEDIAL AND LATERAL CORTICES IN THE MEMORY PROCESSES OF THE TROPICAL LIZARD *Tropidurus hispidus*", utilizing 30 Reptiles (30 males), protocol number CEUA 2285290621 (ID 000426), under the responsibility of **José Ronaldo dos Santos and team; Heitor Franco Santos; João Eduardo Conceição Melo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Sergipe (CEUA/UFS) in the meeting of 11/24/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [01/2022](#) a [01/2026](#) Área: [Fisiologia](#)

Origem: [Laboratório de Neurologia Comportamental e Evolutiva](#)

Espécie: [Répteis, Quelônios, Serpentes, Lagartos](#) sexo: [Machos](#) idade: [1 a 3 anos](#) N: [30](#)

Linhagem: [Tropidurus hispidus](#) Peso: [30 a 60 g](#)

Registro IBAMA/Sisbio/Etc: [Número de protocolo SISBIO: 58575 - protocolo renovado](#)

Método de Captura: [O animal foi capturado por armadilhas enterradas em locais próximos do seu habitat. As armadilhas são feitas de vasilhas largas e de paredes lisas para evitar fuga do animal. Para atrair o lagarto foi condicionada alimentação para aproximação do lagarto. Foi averiguado diariamente a armadilha afim de se visualizar se houve ou não captura. Após a captura, o animal é laçado com fio de nylon na vara. Depois são conduzidos a um caixote com areia para transporte até o local de aclimação.](#)

Local do experimento: [Laboratório de Neurobiologia Comportamental e Evolutiva.](#)

São Cristóforam, 30 de novembro de 2021

Prof. Dr. Josemar Sena Batista
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

ANEXOS B



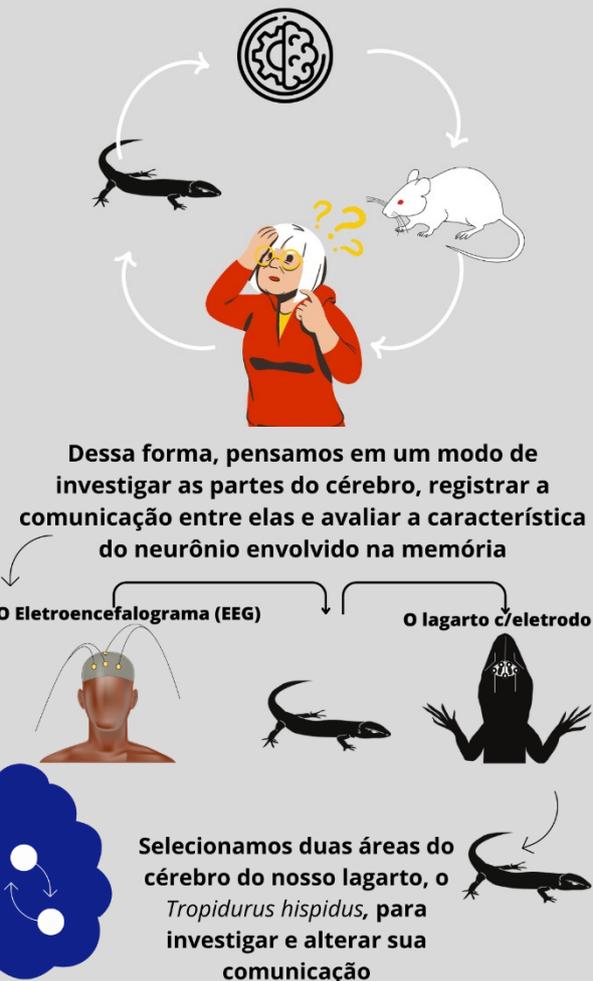
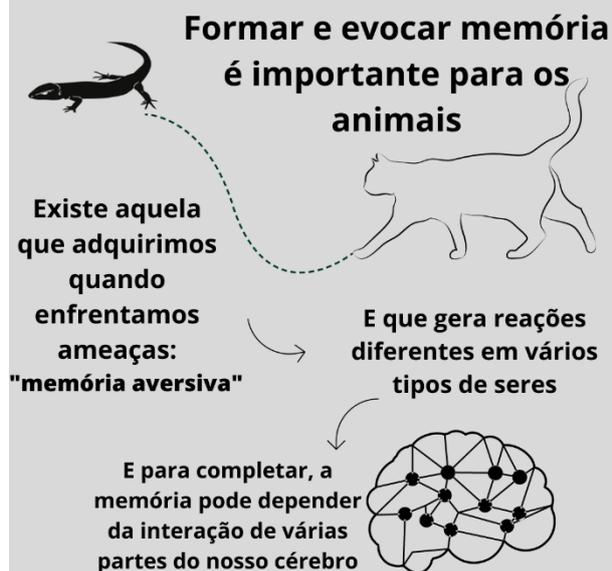
PROC FIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Quais os mistérios por trás da memória e quais as características evolutivas?

Título do trabalho:

INTEGRAÇÃO CORTICAL DURANTE OS PROCESSOS DE MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus*: UMA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CAMPO LOCAL E REGISTRO UNITÁRIO DE NEURÔNIOS

Discente: Heitor Franco Santos
Orientador: José Ronaldo dos Santos



Para avaliar a memória do tipo aversiva, que se relaciona ao medo e pode evoluir a trauma ou transtorno

Expomos o lagarto ao gato, porque o gato é um tipo de ameaça para os pequenos lagartos

E bloqueamos a comunicação entre as partes do cérebro envolvidas com a interpretação visual e com a memorização

Em 3 diferentes etapas

- 1 Antes de ser exposto ao gato
- 2 Depois de ver o gato
- 3 Antes de ser reexposto

O lagarto passou pelo treino:

E passou pelo teste:

Houve prejuízo da comunicação e a memorização foi prejudicada

Não houveram prejuízos para a memorização, mas pequenas diferenças foram observadas na sincronização durante a etapa 3

Em mamíferos e humanos ocorrem eventos semelhantes, como observamos nos lagartos, e isso contribui para declarar que evolutivamente é algo que se mantém

Ao avaliarmos características dos neurônios do lagarto, percebemos que existem semelhanças do potencial de membrana e correntes iônicas

T. hispidus Mamífero

Na⁺ Cl⁻ K⁺

O potencial de membrana revela características associadas a condutância, correntes, capacitância

Todas essas são características as quais associamos o modelo resistor-capacitor ao modelo de membrana e canal iônico

Por fim, nosso estudo nos ajuda a entender melhor como a memória funciona em diferentes tipos de animais e traz novas descobertas à neurociência, contribuindo para nossa compreensão geral do funcionamento do cérebro