

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**ESTUDO DOS MODOS DE ATIVIDADE DE
CÉLULAS DE LUGAR NO HIPOCAMPO DE
RATOS COM LIVRE MOVIMENTAÇÃO**

JADER PERES DA SILVA

Orientador: Marco Aurélio P. Idiart

Porto Alegre, Março de 2016

Resumo

As células de lugar são neurônios hipocâmpais que apresentam atividade correlacionada com a posição no espaço, só disparam quando o animal cruza uma determinada região no ambiente. Acredita-se que as células de lugar sejam responsáveis por formar mapas neurais do espaço físico, e que estão intimamente envolvidas com o processamento da memória espacial. Além disso, estudos mostram que as células de lugar podem ser fundamentais para a projeção mental, o planejamento de trajetória, e imaginação. Alguns trabalhos identificaram que a atividade das células de lugar pode ocorrer em modos de atividade distintos, os quais representam funcionalidades distintas na rede. Em geral esses trabalhos utilizam experimentos em plataformas lineares que restringem as análises dos perfis de atividade das células de lugar. Nesse trabalho construímos um laboratório de análises computacionais para avaliar o perfil de atividade de neurônios hipocâmpais caracterizados como células de lugar e utilizamos dados de eletrofisiologia disponíveis em um repositório digital (*crcns.org*) para realizar análises dos modos de atividade das células de lugar. Como resultados, obtivemos sucesso em demonstrar a ocorrência de modos de atividade distintos, que se assemelham ao disposto na literatura, bem como avaliar diversas características da atividade das células de lugar que servem de suporte para as teorias de memória espacial, planejamento de rota e projeção mental.

Abstract

Place cells are hippocampal neurons whose activity is correlated with position in space, they only fire when the animal crosses a specific region in the environment. It is believed that place cells are responsible for forming neural maps of the physical space and that they are intimately related with the processing of spatial memories. Besides, studies have shown that place cells can play a central role in mind traveling, route planning, and imagination. Some works found that place cells may have distinct modes of activity, which represents distinct functionalities in the network. Generally these works use experiments in linear platforms that difficult the analysis of the activity profile of place cells. In this work we build a laboratory of computational analysis to evaluate the activity profile of hippocampal neurons described as place cells, and we use electrophysiological data from a digital repository (*crcns.org*) to perform analysis of activity modes of place cells. As results, we have successfully shown the occurrence of distinct activity modes, which are in accordance with literature, as well as evaluate a series of activity features of place cells which serve to support theories like route planning, mind traveling and spatial memory.

Sumário

1. Introdução	1
1.1 Navegação e Memória Espacial.....	1
1.2 Lobo Temporal Medial.....	3
1.2.1 Anatomia do Lobo Temporal Medial.....	3
1.2.2 Hipocampo, memória declarativa e navegação.....	5
1.3 O Sistema de Navegação.....	6
1.3.1 Mapa Cognitivo e descoberta da Células de Lugar.....	6
1.3.2 Outros Tipos Neurais Envolvidos no Sistema de Navegação.....	8
1.4 Propriedades das Células de Lugar.....	12
1.4.1 Remapeamento.....	13
1.4.2 Múltiplas Escalas.....	14
1.4.3 Codificação Temporal.....	14
1.5 Modos de Atividade.....	18
2. Objetivos	21
2.1 Objetivos Gerais.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
3. Metodologia	22
3.1 Coleta e Descrição de Dados.....	22
3.2 Processamento de Dados.....	23
3.2.1 Computando o Mapa de Ocupação.....	23
3.2.2 Cálculo do Mapa de Atividade.....	25
3.2.3 Seleccionando Células de Lugar.....	26
3.2.4 Seleccionando Campos Receptivos.....	27
3.2.5 Seleccionando Corridas.....	30
3.2.6 Definindo os Modos de Atividade.....	33
4. Análises e Resultados	34
4.1 Considerações sobre Estatística.....	34
4.2 Estatísticas Descritivas.....	35
4.3 Análise da Rapidez Média Durante as Corridas.....	38
4.4 Análise dos Modos de Atividade.....	39
4.5 Distribuição dos Modos por Região.....	43
4.6 Área dos Campos Receptivos por Modo.....	44
4.7 Perfil de Atividade das Corridas.....	45
4.8 Análise da Rapidez Média por Modo.....	52
4.9 Análise da Mudança de Trajetória.....	53
4.10 Combinação Temporal dos Modos.....	56
5. Discussão	60
6. Conclusão	66
7. Referências Bibliográficas	68

Índice de Figuras

<i>Figura 1. Mecanismos de Navegação.</i>	2
<i>Figura 2. O Lobo Temporal Medial.</i>	4
<i>Figura 3. Células de Lugar no Hipocampo.</i>	7
<i>Figura 4. Tipos Neurônais Envolvidos no Sistema de Navegação.</i>	11
<i>Figura 5. Célula de Lugar: Remapeamento.</i>	16
<i>Figura 6. Célula de Lugar: Código Temporal.</i>	17
<i>Figura 7. Padrão de Disparos no Campo Receptivo.</i>	19
<i>Figura 8. Desenho Experimental.</i>	22
<i>Figura 9. Construção do Mapa de Ocupação.</i>	24
<i>Figura 10. Construção do Mapa de Atividade Neuronal.</i>	26
<i>Figura 11. Seleção de Campos Receptivos.</i>	30
<i>Figura 12. Seleção de Corridas.</i>	32
<i>Figura 13. Modos de Atividade.</i>	33
<i>Figura 14. Padrões de Atividade de Neurônios.</i>	36
<i>Figura 15. Rapidez Média Durante as Corridas.</i>	38
<i>Figura 16. Comparação dos Modos Corrigidos pelo Fator Rapidez.</i>	39
<i>Figura 17. Comparação dos Modos com Modelo Aleatório Simples.</i>	40
<i>Figura 18. Histograma das Posições dos Disparos em Relação ao Centróide....</i>	41
<i>Figura 19. Modos Comparados com Modelo Aleatório com Viés Prospectivo....</i>	42
<i>Figura 20. Modos por Região.</i>	43
<i>Figura 21. Área Média dos Campos Receptivos por Modo.</i>	44
<i>Figura 22. Perfil de Atividade.</i>	46
<i>Figura 23. Variação dos PA das Corridas.</i>	47
<i>Figura 24. Média de Concentração de Disparos do PA das Corridas.</i>	49
<i>Figura 25. Distância dos Picos dos PA para o Centro das Corridas.</i>	50
<i>Figura 26. Selecionando Picos no PA.</i>	51
<i>Figura 27. Corridas com Segundo Pico de Atividade por Modo.</i>	52
<i>Figura 28. Rapidez Média nas Metades Inicial e Final das Corridas por Modo.</i>	53
<i>Figura 29. Metodologia de Análise da Mudança de Trajetória.</i>	54
<i>Figura 30. Análise da Mudança de Direção da Trajetória.</i>	55
<i>Figura 31. Selecionando Corridas entre Intervalos de Tempo.</i>	57
<i>Figura 32. Combinação Temporal de Corridas.</i>	58

Lista de Abreviaturas

CA	Corno de Amon
CEL	Córtex Entorrinal Lateral
CEM	Córtex Entorrinal Medial
GD	Giro Denteado
HDC	Head Direction Cell
LFP	Potencial de Campo Local
LTD	Depressão de Longa Duração
LTM	Lobo Temporal Medial
LTP	Potenciação de Longa Duração
MA	Mapa de Atividade
MO	Mapa de Ocupação
PA	Perfil de Atividade da Corrida

1. Introdução

1.1 Navegação e Memória Espacial

Todos nós realizamos tarefas diárias que envolvem a capacidade de memorizar, reconhecer e planejar projeções no espaço em que vivemos. Por exemplo, quando um indivíduo deseja retornar ao local onde estacionou seu veículo, este necessita lembrar de algum ponto de referência do local, como um número de estacionamento, bem como é preciso lembrar o percurso que leva até esse ponto de referência. Para efetuar essas funções utilizamos um complexo sistema de navegação espacial, composto por diversas regiões encefálicas e diversos tipos neuronais (Chersi e Burgess, 2015).

A capacidade de navegação espacial é composta por dois mecanismos de processamento de informação distintos, mas que trabalham de maneira interligada (Filimon, 2015). Um deles processa informações referentes a pontos de referência no espaço e suas distâncias, como um mapa com coordenadas, este mecanismo é chamado de navegação *alocêntrica* (Figura 1 a). O outro mecanismo utiliza informações de deslocamento do próprio indivíduo, ou seja, calcula e memoriza as variações de posição ao longo do tempo sem utilizar informação sensorial externa, este recebe o nome de navegação *egocêntrica* (Figura 1 b).

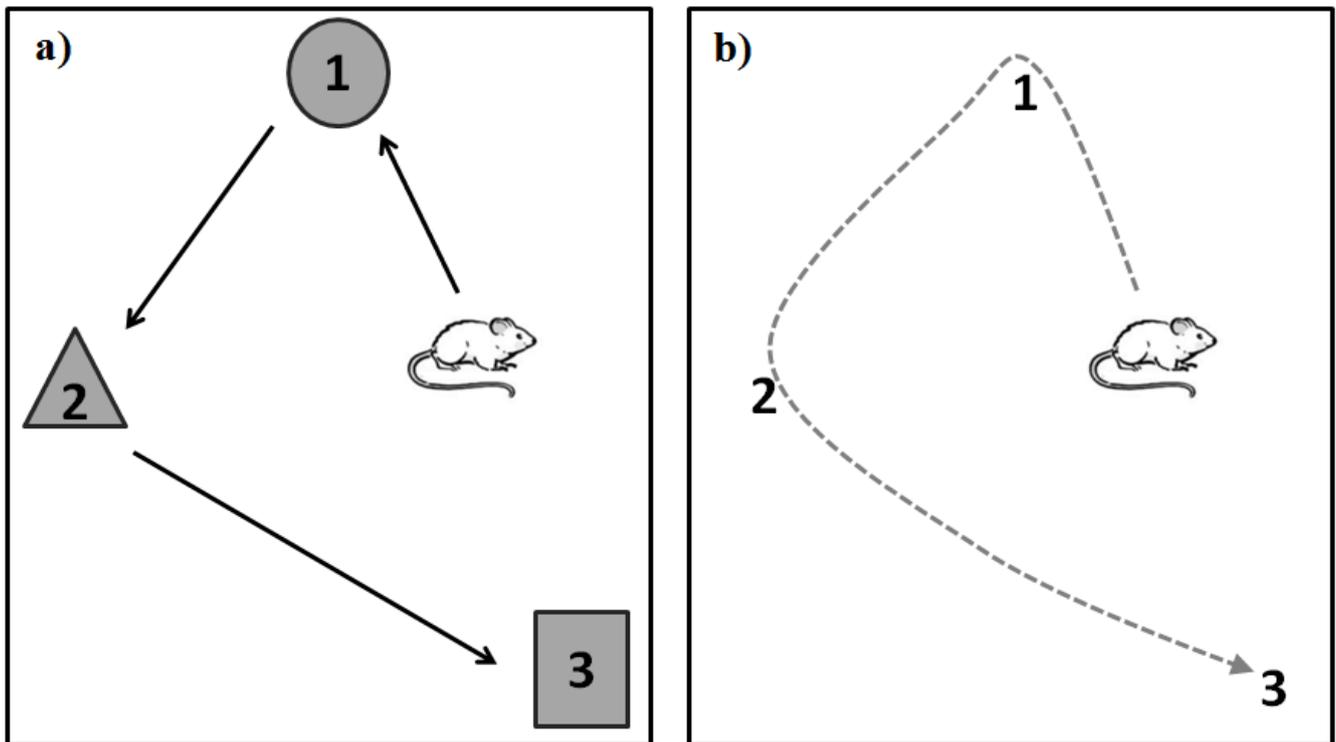


Figura 1. Mecanismos de Navegação. *a) Navegação Allocêntrica. O animal memoriza a localização e as relações de distância entre os pontos de referência, representados pelas três formas geométricas. b) Navegação Egocêntrica. O animal memoriza a sua própria trajetória através do cálculo de integração de caminho, ou seja, calcula a direção e velocidade a cada ponto da trajetória (Madl et al., 2015; Poucet et al., 2015).*

A memória espacial, a qual diz respeito ao armazenamento e evocação de informações relativas aos espaços físicos, não faz parte das divisões clássicas dos sistemas de memória, porém há uma relação direta entre suas características e àquelas das memórias declarativas, ou memórias explícitas (Burgess, Maguire e O'keefe, 2002; Buzsáki e Moser, 2013).

As memórias declarativas recebem esse nome porque somos capazes de verbalizá-las e se dividem em memória semântica e memória episódica. A memória

semântica diz respeito aos conhecimentos adquiridos e independentes do contexto de aquisição, por exemplo, o conceito de palavras e suas representações. Já a memória episódica é aquela que processa informações dependentes de contexto, que estão ligadas às experiências de vida do indivíduo, por exemplo, locais presenciados e eventos que ocorreram no passado (Mcgaugh, 2000).

É possível que neurônios responsáveis pelo processamento de memória espacial e de memória declarativa sejam em parte os mesmos ou que estes sejam grupos distintos (Eichenbaum e Cohen, 2014). Por outro lado, as regiões encefálicas cruciais no processamento desses dois sistemas de memórias são as mesmas. As principais se localizam no lobo temporal medial (Barens *et al.*, 2010).

1.2 Lobo Temporal Medial

1.2.1 Anatomia do Lobo Temporal Medial

A região do lobo temporal medial (LTM) é composta por um conjunto de estruturas conectadas anatomicamente que são fundamentais para o processamento da memória declarativa e memória espacial. As estruturas que compõem essa região são: a formação hipocampal, o complexo subicular e a formação parahipocampal (composta pelos córtices perirrinal, entorrinal e parahipocampal adjacentes) (Squire, Stark e Clark, 2004) (Figura 2).

As conexões entre as estruturas do LTM e dessas com outras regiões corticais são intrincadas e em grande parte desconhecidas. Dentre as regiões do LTM, sabe-se que todas estão intimamente conectadas direta e/ou indiretamente (Witter, 2010).

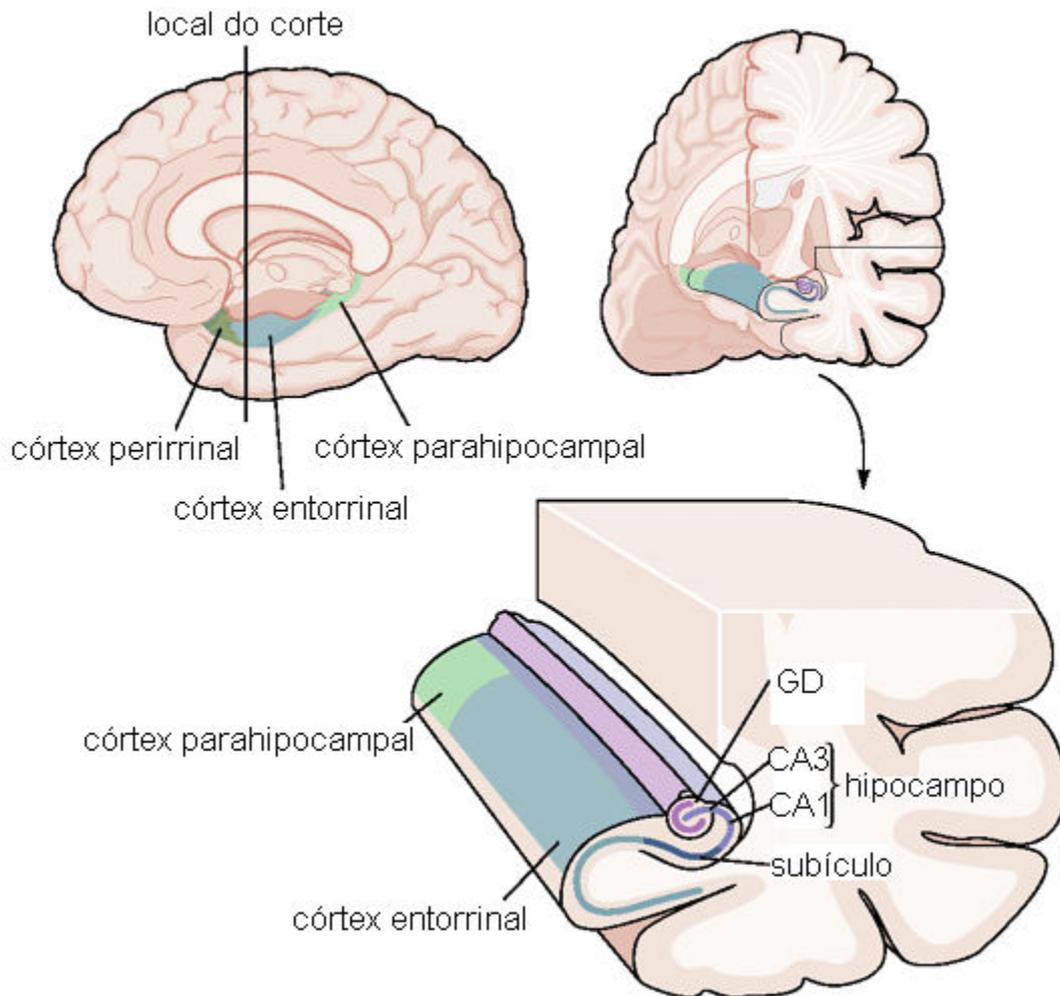


Figura 2. O Lobo Temporal Medial. À esquerda, corte sagital mostrando os córtices do lobo temporal medial no hemisfério direito. À direita, corte coronal. A formação hipocampal é composta pelo hipocampo (áreas CA3 e CA1) e pelo Giro Denteado (GD), as quais são duas finas camadas neuronais dobradas sobre si mais o subículo. A formação hipocampal constitui uma das áreas mais primitivas do encéfalo, já os córtices adjacentes estão presentes apenas em mamíferos. Modificado de (Kandel et al., 2013).

A principal via de conexão entre a região parahipocampal e a formação hipocampal é uma projeção do córtex entorrinal para o hipocampo chamada via

perforante. Essa via possui duas subdivisões: a via direta sai da terceira camada cortical do córtex entorrinal e atinge os dendritos distais dos neurônios piramidais de CA1; a via indireta sai da segunda camada cortical do córtex entorrinal para as células granulares do Giro Denteado, as quais projetam para o CA3, e estas para o CA1. O CA1 por sua vez constitui a principal aferência ao córtex entorrinal, projetando diretamente à segunda camada do mesmo, ou indiretamente via subículo (Witter e Moser, 2006).

1.2.2 Hipocampo, memória declarativa e navegação

A descoberta da relevância do hipocampo e regiões associadas no processamento de memórias declarativas data da década de 50, quando o paciente conhecido como H.M. teve a região do LTM bilateralmente removida para contenção de crises epiléticas. H.M. apresentou quadro gravíssimo de amnésia anterógrada, mas somente para o grupo de memórias declarativas (Milner, Squire e Kandel, 1998).

As leis de plasticidade sináptica necessárias ao aprendizado e memória propostas por Donald Hebb (Hebb, 1949) foram comprovadas primeiramente no hipocampo (Bliss e Lomo, 1973; Lømo, 2003). Os descobrimentos da Potenciação de Longa Duração (LTP - do inglês Long Term Potentiation) e da Depressão de Longa Duração (LTD - do inglês Long Term Depression) nas regiões CA1 (Schwartzkroin e Wester, 1975), CA3 (Alger e Teyler, 1976) e GD *in vitro* (Alger e Teyler, 1976) e *in vivo* (Teyler e Discenna, 1987) foram os primeiros indícios a nível celular da importância dessa circuitaria no processamento de memórias. Mas ainda hoje são incertos os mecanismos pelos quais as redes formadas pelos neurônios hipocampais processam as memórias declarativas.

Ao mesmo tempo, há mais de meio século trabalhos experimentais com diversos modelos animais (Morris, 1981; Morris, 1984), incluindo humanos (Maguire *et al.*, 2000), têm demonstrado que o hipocampo, ou estrutura homóloga primitiva (Rodríguez *et al.*, 2002), tem papel crucial no processamento da memória espacial e está diretamente ligado à capacidade de navegação. Porém, ao contrário do exposto sobre memórias declarativas, conhecemos muito mais sobre a atividade neuronal e circuitaria envolvidos no processo de navegação. Isso foi possível pela descoberta de tipos neuronais que apresentam padrões de atividade especificamente com correlação espacial.

1.3 O Sistema de Navegação

1.3.1 Mapa Cognitivo e descoberta da Células de Lugar

Em experimentos realizados em 1948, o psicólogo Edward Tolman (Tolman, 1948) demonstrou que ratos possuem a capacidade de encontrar atalhos dentro de labirintos entre dois locais que já foram previamente visitados por outras rotas. Tolman chegou a conclusão de que os animais formam uma representação neural do ambiente como um todo, uma espécie de mapa. A essa representação espacial Tolman deu o nome de *mapa cognitivo* - o qual seria formado pelo agregado de informação adquiridas sobre o espaço físico dos ambientes e as vivências dos ratos nesses locais.

A teoria do mapa cognitivo proposto por Tolman permaneceu por mais de 20 anos sem grandes corroborações. Porém em 1971, O'Keefe e Dostrovsky, na tentativa de descrever a atividade de neurônios hipocampais, implantaram microeletrodos em neurônios da região CA1 de ratos para analisar o perfil de disparos desses neurônios individualmente enquanto os ratos se moviam livremente em um ambiente com

dimensões de 24cm X 36cm (O'keefe e Dostrovsky, 1971). Nessas condições, o que os pesquisadores encontraram foi um padrão de atividade neuronal muito específico: a maior parte dos neurônios hipocampais em CA1 possui uma forte correlação entre a taxa de disparos de potenciais de ação e a posição do animal no ambiente. Quando o animal se move para uma determinada região o neurônio analisado começa a disparar, e quando o animal deixa esse local, os disparos desse neurônio cessam. Esses neurônios receberam o nome de *células de lugar* (*place cells*), e as regiões no espaço onde essas células estão ativas foram chamadas de *campos receptivos* (*place field*) (Figura 3).

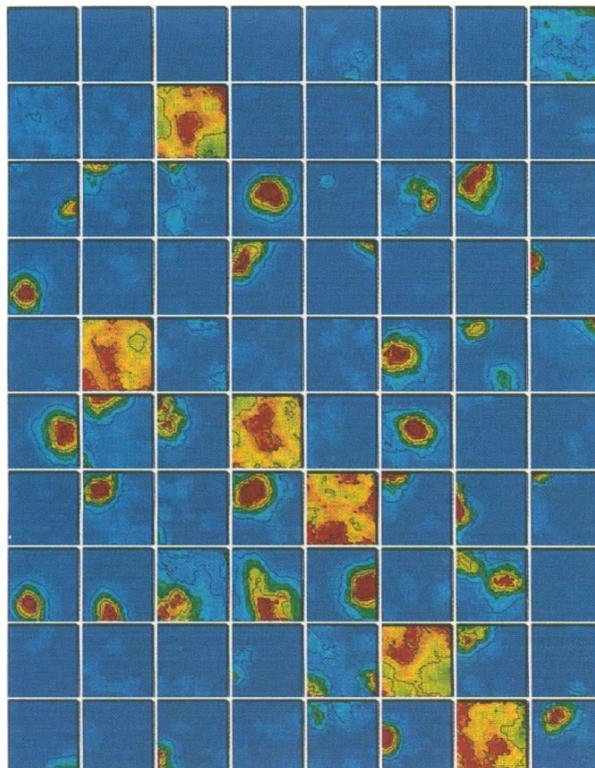


Figura 3. Células de Lugar no Hipocampo. Os quadrados representam a visão superior do ambiente. Cada quadrado representa a atividade de uma célula dentro do mesmo ambiente. As regiões em vermelho representam regiões de alta atividade neuronal, já as regiões em azul representam regiões sem atividade. Na figura é possível notar a ocorrência de neurônios que não possuem atividade durante o experimento, neurônios que possuem atividade homogênea por todo o ambiente, e neurônios que só disparam

em algum local do ambiente (células de lugar). Extraído de (Wilson e Mcnaughton, 1993).

A descoberta das células de lugar trouxe força à teoria original de Tolman (O'keefe e Nadel, 1978). Como cada célula de lugar codifica uma região distinta do ambiente, através do somatório da atividade dessas células é possível formar uma representação como um mapa, e é possível que o animal "trafegue" nesse mapa mesmo que não esteja propriamente no local, apenas através da atividade neuronal (Buzsáki e Moser, 2013; Sanders *et al.*, 2015).

Para a construção do suposto mapa cognitivo é necessário um sistema que seja capaz de adicionar informações sobre a posição do animal a cada instante através da utilização de um sistema aloentróico, com algum tipo de referencial métrico imutável. As células de lugar, por sua vez, atuam de maneira diferente, pois a região de disparos é distinta para cada novo ambiente (O'keefe e Conway, 1978), de modo que não é possível formar um sistema métrico fidedigno. Ou seja, as células de lugar não seriam capazes de calcular o algoritmo necessário para que elas próprias apresentassem seu padrão de atividade.

A ideia de que a representação métrica do espaço seria computada fora do hipocampo e só então transmitida às células de lugar foi proposta ainda na década de 70 (O'keefe, 1976). A hipótese mais óbvia para assumir essa função foi o córtex entorrinal, visto que dele advém as principais aferências ao hipocampo.

1.3.2 Outros Tipos Neurônios Envolvidos no Sistema de Navegação

Em 1985, em um estudo realizado com neurônios do presubículo, foram descobertos neurônios que disparam quando a cabeça do animal está voltada para uma

determinada direção. Essas células receberam o nome de *Head Direction Cells* (HDC) (Muller, Ranck e Taube, 1996) (Figura 4 a).

As primeiras análises realizadas no córtex entorrinal contrariaram as expectativas, pois não se encontrou modulação espacial nessa região (Moser e Moser, 2008). Porém, no início do século 21 o grupo de pesquisas liderado por Edvard Moser e May-Britt Moser iniciou uma série de trabalhos que viria a adicionar peças fundamentais à teoria do mapa cognitivo.

Um primeiro trabalho demonstrou que as células de lugar em CA1 mantinham seu padrão de atividade mesmo cortando as conexões com o resto da formação hipocampal (Brun *et al.*, 2002). Ao contrário dos outros estudos da época que avaliavam o córtex entorrinal lateral (CEL), o grupo dos Moser realizou um estudo que analisou a região dorsolateral do córtex entorrinal medial (CEM) (Fyhn *et al.*, 2004). Neste trabalho foi possível perceber a existência de neurônios com modulação espacial semelhante às células de lugar. Em um trabalho posterior, em um ambiente maior, foi possível perceber que esses neurônios do CEM apresentam um padrão característico de disparo com muitos campos receptivos dispostos em distâncias equivalentes, formando um padrão triangular ou hexagonal. Esses neurônios receberam o nome de células de grade (*grid cells*) (Hafting *et al.*, 2005) (Figura 4 b).

As células de grade, junto com as células de lugar, foram encaradas como as figuras centrais do sistema de navegação e memória espacial após suas descobertas. O estudo das células de grade tem confirmado a importância dessas células para os sistemas de navegação e memória espacial. Logo que descobertas foi proposto que as células de grade seriam as responsáveis pelo padrão de atividade das células de lugar, pois elas fornecem uma métrica egocêntrica que é mantida para qualquer tipo de ambiente, enquanto que as células de lugar formam mapas diferentes para ambientes

diferentes. Essa ideia inicial é muito confrontada, e atualmente sabe-se que ambas influenciam a atividade uma da outra, mas não é claro qual o nível dessa influência (Bonnievie *et al.*, 2013; Bush, Barry e Burgess, 2014; Moser *et al.*, 2014).

Outros tipos neuronais com modulação espacial e que, a princípio, fazem parte do sistema de navegação incluem: as *conjunctive cells* (Sargolini *et al.*, 2006) (Figura 4 c), neurônios encontrados principalmente nas camadas profundas do CEM e apresentam campos receptivos semelhantes às células de grade, mas só disparam quando o animal está voltado em uma direção semelhante às HDC; as *border cells* (Solstad *et al.*, 2008) (Figura 4 d), possuem campos receptivos ligados às bordas do ambiente; as *trace cells* (Tsao, Moser e Moser, 2013) (Figura 4 f), neurônios que marcam a posição de objetos no ambiente; e as *speed cells* (Kropff *et al.*, 2015) (Figura 4 e), neurônios que alteram a frequência de disparos de acordo com a rapidez do animal. Além de outros tipos neuronais com características semelhantes, mas não bem descritas ainda.

Todos esses tipos neuronais aparentam apresentar algum tipo de informação relevante para a formação do mapa cognitivo, bem como para o planejamento de rota.

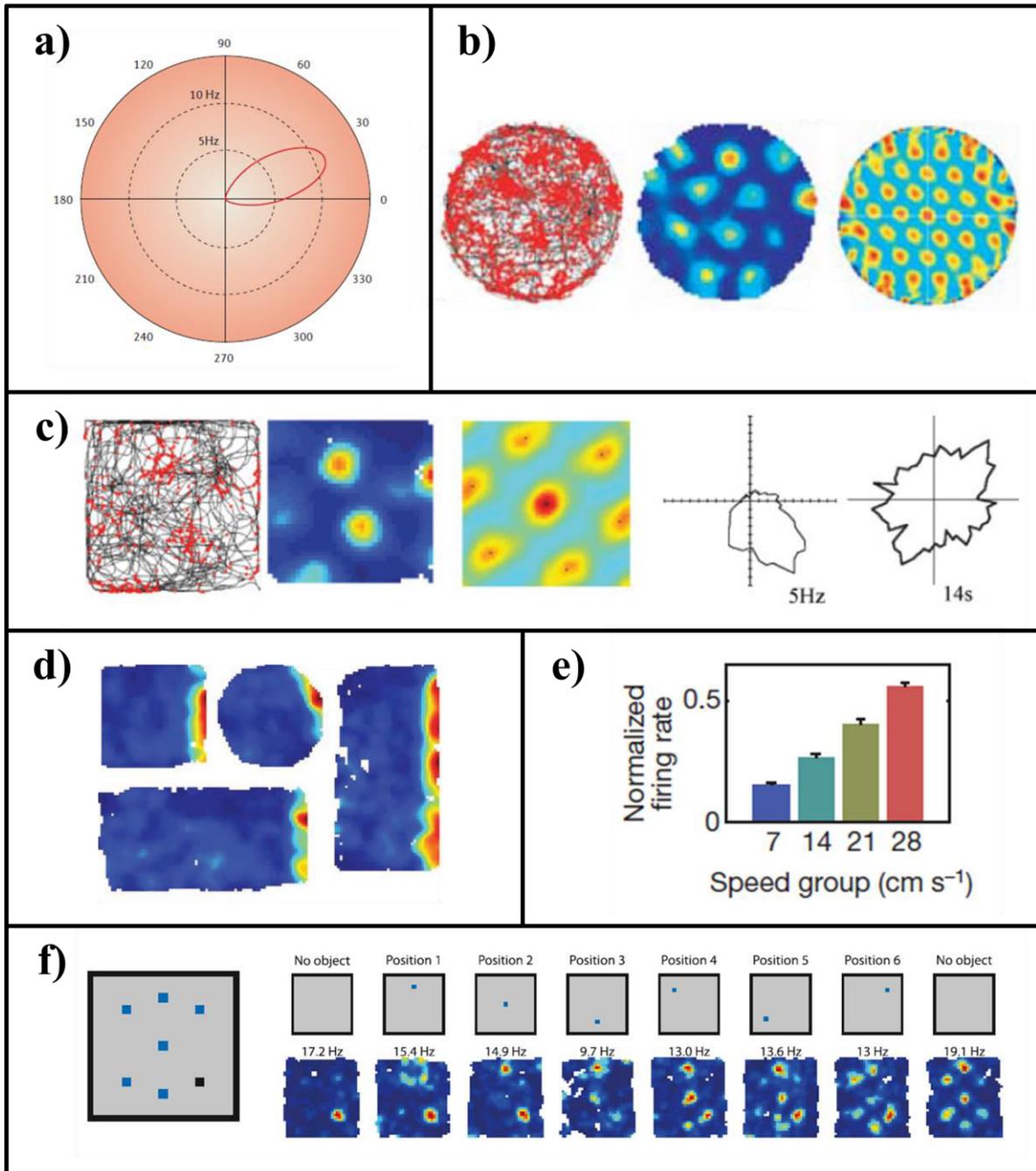


Figura 4. Tipos Neurais Envolvidos no Sistema de Navegação. *a) HDC, a figura mostra que a frequência de disparos desse neurônio aumenta quando a cabeça do animal está apontando na direção que corresponde aproximadamente a 30° (modificado de (Mcnaughton et al., 2006)); b) Grid cell, à esquerda está representado a trajetória do animal (cinza) e a posição dos potenciais de ação (vermelho), no centro está o mapa de cores do neurônio, e à direita o mapa de autocorrelação calculado pelo*

*mapa de cores (modificado de (Hafting et al., 2005)); c) **Conjunctive cell**, as três figuras da esquerda são semelhantes à "b" para outro neurônio, enquanto as duas da direita representam a frequência de disparos em relação a direção da cabeça e o tempo que o animal permaneceu virado para cada direção (modificado de (Sargolini et al., 2006)); d) **Border cell**, mapas de cores mostrando um neurônio que reconhece bordas à direita do ambiente (modificado de (Solstad et al., 2008)); e) **Speed cell**, gráfico que mostra a frequência de disparos dos neurônios em relação a rapidez (modificado de (Kropff et al., 2015)); f) **Trace cell**, à esquerda está representada todas as posições nas quais será colocada um objeto, as imagens a direita representam, cada uma, um novo local onde é colocado o objeto (na fileira inferior, o mapa de cores mostra como a trace cell reconhece os locais onde esteve o objeto) (modificado de (Tsao, Moser e Moser, 2013)).*

1.4 Propriedades das Células de Lugar

As células de lugar são neurônios piramidais localizados nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo. Apesar de terem sido descobertas e serem melhor estudadas em ratos, sua existência já foi evidenciada em diversas outras espécies como camundongos (Fyhn *et al.*, 2008), morcegos (Yartsev, Witter e Ulanovsky, 2011), macacos (Rolls e O'mara, 1995) e humanos (Ekstrom *et al.*, 2003).

Como já foi mencionado, as células de lugar apresentam atividade apenas enquanto o animal está posicionado sobre os campos receptivos espaciais, porém o estudo deste grupo de neurônios ao longo dos anos evidenciou diversas características relevantes sobre seu padrão de atividade.

Em geral, o disparo das células de lugar independe da direção para a qual o animal cruza os campos receptivos, exceto para um grupo celular encontrado no pré e parasubículo que apresenta campos receptivos apenas em determinadas direções (Cacucci *et al.*, 2004). Apesar disso, a atividade torna-se direcionada em experimentos de trajetória linear, onde o animal não consegue se mover livremente para os lados e precisa seguir determinados caminhos. Este dado é relevante, pois pode dificultar a identificação do centro e dos limites dos campos receptivos, como será discutido adiante.

1.4.1 Remapeamento

Como a maioria dos experimentos são realizados em ambientes pequenos, é comum que as células de lugar apresentem apenas um campo receptivo por ambiente testado. Porém, cada célula de lugar pode apresentar diversos campos receptivos dependendo do tamanho do campo experimental, e estes campos receptivos aparentemente não possuem uma relação posicional entre si (Fenton *et al.*, 2008).

A atividade das células de lugar é comandada tanto por informações externas (alocêntricas) quanto internas (egocêntricas) vindas de sistemas proprioceptivos. Enquanto o perfil de atividade de algumas células de lugar é descaracterizado após a remoção de informações egocêntricas, como redução da atividade do sistema vestibular (Chen *et al.*, 2013; Ravassard *et al.*, 2013), as evidências mostram que a maior parte da informação que ancora a atividade das células de lugar são estímulos externos (O'Keefe e Conway, 1978).

Logo que o animal entra em um ambiente novo, as células de lugar rapidamente estabilizam seu padrão de disparo, o qual se mantém por diversos dias (Thompson e

Best, 1990). Porém o padrão de disparos das células de lugar varia de um ambiente para outro (Muller e Kubie, 1987; Fyhn *et al.*, 2007), característica que recebe o nome de *remapeamento* (Figura 5). O remapeamento pode ocorrer tanto pela mudança de ambiente quanto por uma mudança de tarefa (Markus *et al.*, 1995) ou mudança de trajetória planejada (Dupret *et al.*, 2010).

1.4.2 Múltiplas Escalas

As células de lugar não apresentam organização topográfica, ou seja, a posição do campo receptivo de uma célula de lugar não está relacionada à posição de outro campo receptivo de outra célula de lugar. Esse arranjo permite que um pequeno grupo de células de lugar mapeie todo o ambiente no qual se encontra o animal, e que diversas representações do mesmo sejam feitas. A análise de atividade de uma única subpopulação de células de lugar permite a predição do deslocamento realizado pelo animal (Wilson e McNaughton, 1993).

A análise de neurônios ao longo do eixo dorsoventral do hipocampo mostrou que o tamanho dos campos receptivos das células de lugar é crescente na direção dorsal-ventral, atingindo diâmetros de 30 centímetros até 10 metros na porção mais ventral do hipocampo (Kjelstrup *et al.*, 2008; Strange *et al.*, 2014).

1.4.3 Codificação Temporal

Quando se analisa ao mesmo tempo a atividade de uma célula de lugar e o potencial de campo local (atividade elétrica populacional) (LFP - *Local Field Potential*) do hipocampo do rato, percebe-se um fenômeno denominado *precessão de fase*.

Enquanto o animal se desloca no espaço, a atividade do hipocampo apresenta uma forte modulação dentro do ritmo Teta (6Hz – 12Hz) (Buzsáki, 2002). O fenômeno de precessão de fase caracteriza-se pelo disparo da célula de lugar em fases cada vez mais anteriores do ciclo Teta do hipocampo à medida que o animal atravessa o campo receptivo. Esse padrão de disparos em sequências temporais específicas fornece uma codificação temporal sobre a posição do animal no ambiente (O'keefe e Recce, 1993) (Figura 6 a).

Posteriormente, descobriu-se que a precessão de fase é uma manifestação neuronal que faz parte de uma codificação temporal envolvendo um arranjo populacional de células de lugar e o ciclo Teta chamada de *sequência Teta* (*Theta sequence*) (Foster e Wilson, 2007). A sequência Teta diz respeito aos disparos das células de lugar com campos receptivos adjacentes ocorrerem em sequência dentro do ciclo Teta (Figura 6 b). Acredita-se que através desse mecanismo o animal seja capaz de planejar rotas e percorrer mentalmente suas possíveis trajetórias (Sanders *et al.*, 2015).

Além da sequência Teta, outra característica importante que diz respeito a arranjos de células de lugar é o chamado *replay* (Figura 6 c). Este consiste na repetição da sequência de disparos dos neurônios após um determinado percurso (Atherton, Dupret e Mellor, 2015). O *replay* pode ser fundamental para a consolidação de memórias, visto que ocorre também quando o animal está dormindo (Lee e Wilson, 2002).

Essas são algumas das principais características individuais e populacionais das células de lugar descobertas ao longo de 40 anos. Todas elas em conjunto permitem a conjectura da essencialidade desses neurônios no sistema de memória espacial e navegação.

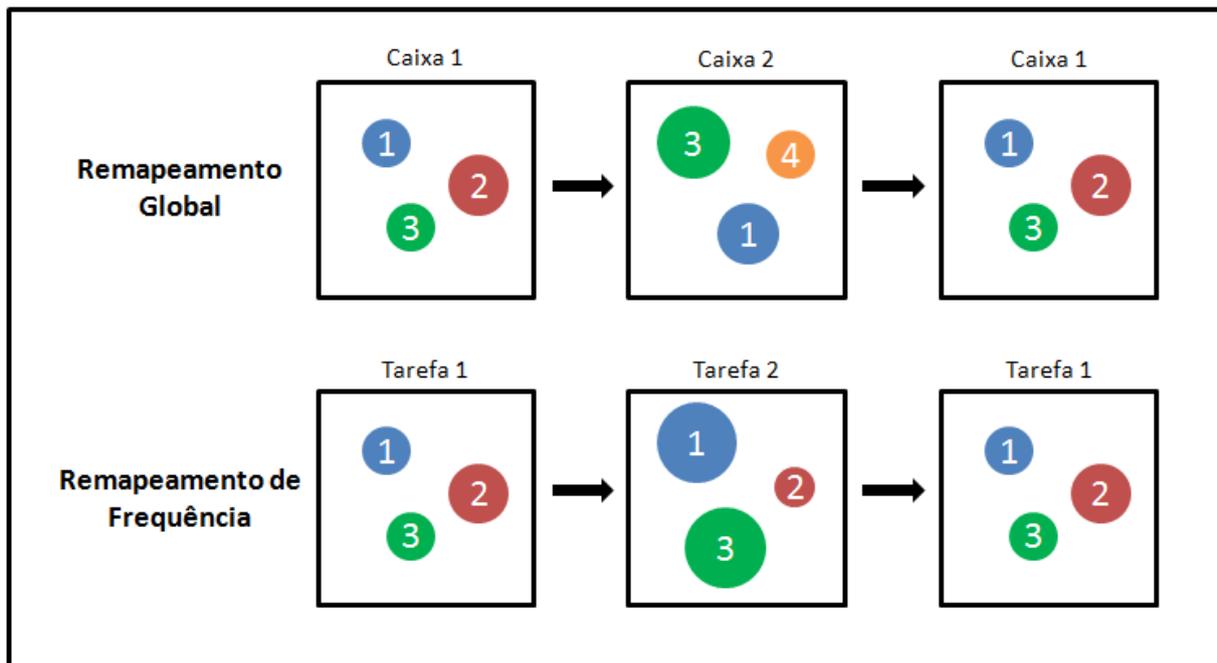


Figura 5. Célula de Lugar: Remapeamento. A sequência de imagens superiores mostra o chamado remapeamento global, que representa a mudança de posicionamento dos campos receptivos. Cada círculo representa um campo receptivo de uma célula de lugar distinta. Quando o animal é trocado de ambiente (caixa 1 para caixa 2) as células de lugar alteram os perfis de atividade, inclusive algumas células deixam de estar ativas e outras são recrutadas. Quando o animal é recolocado na caixa 1 o "mapa" desse local é reativado. Já a sequência de imagens inferiores representam o remapeamento de frequência, no qual os campos receptivos permanecem nas mesmas posições, mas podem apresentar mudança na frequência de disparos ou no tamanho dos campos. Esse tipo de remapeamento pode ocorrer devido a mudança de tarefas ou pequenas alterações no ambiente.

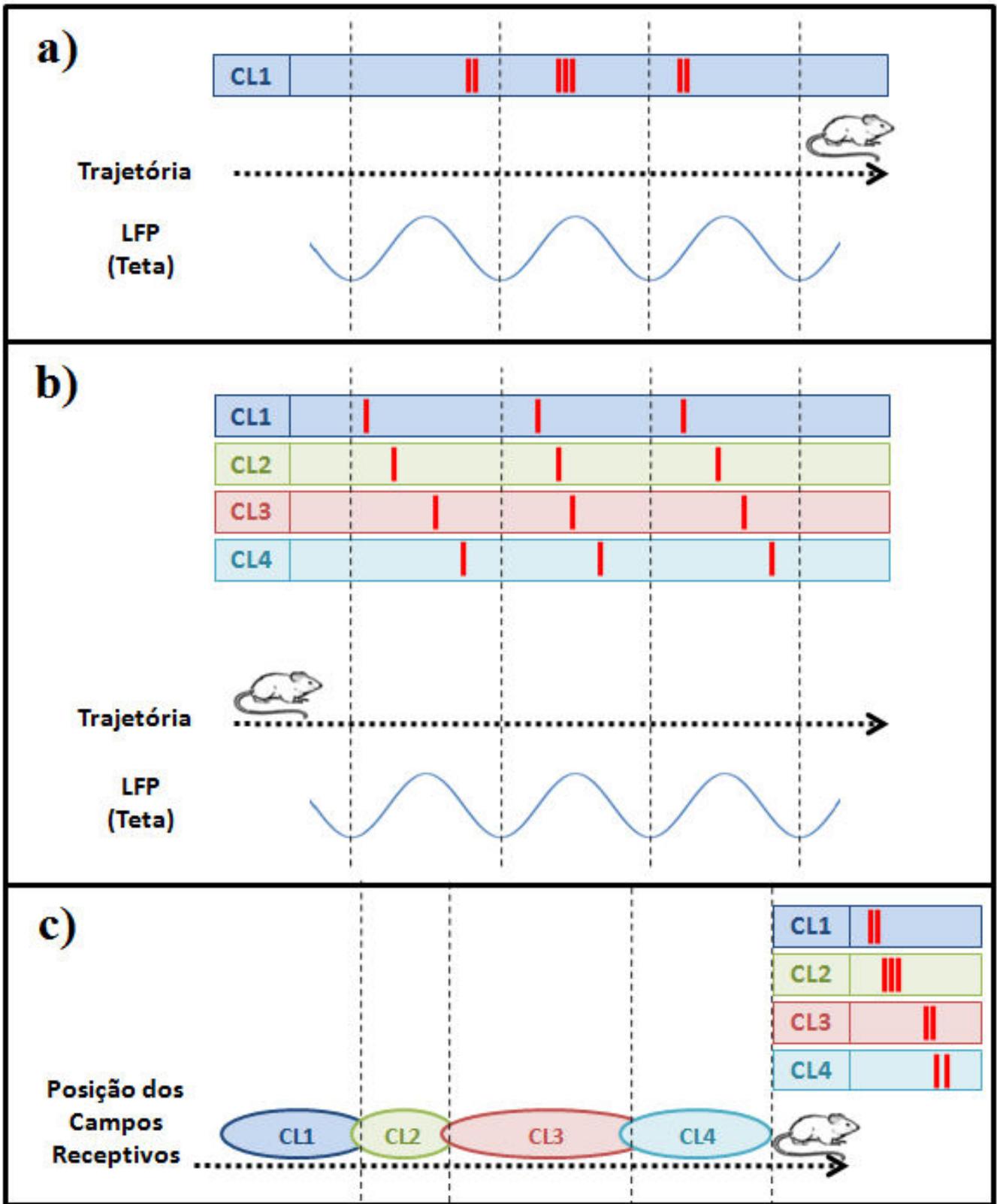


Figura 6. Célula de Lugar: Código Temporal. a) Precessão de fase. Durante a trajetória sobre o campo receptivo de CL1, os potenciais de ação ocorrem em fases anteriores do ciclo Teta. CL1 representa a atividade da célula de lugar 1, indicada

pelos traços vermelhos. As linhas verticais tracejadas marcam os limites de cada ciclo Teta. **b) Sequência Teta.** Dentro de cada oscilação do ciclo Teta, as células de lugar disparam em sequência, mesmo o animal não tendo cruzado seus respectivos campos receptivos. Note que o animal ainda não realizou a trajetória. **c) Replay.** As células de lugar disparam após o animal ter realizado a trajetória na mesma sequência em que o animal cruzou seus campos receptivos. As circunferências marcam as posições dos campos receptivos de quatro células de lugar, os quais são atravessados nessa sequência.

1.5 Modos de Atividade

O padrão de atividade de uma célula de lugar costuma ser analisado após o término de uma sessão de treinamento, assim forma-se uma figura final da atividade do neurônio. Tipicamente, identificam-se os campos receptivos como áreas com maior frequência de disparos, nos quais a área central possui maior frequência de disparos e essa frequência gradativamente diminui com o afastamento do centro (Figura 7). Esse perfil de disparos que formam os campos receptivos pode ser formado tanto por uma maior excitabilidade do neurônio na posição central, como por uma combinação de diferentes padrões de disparos ao longo da sessão experimental (Figura 7).

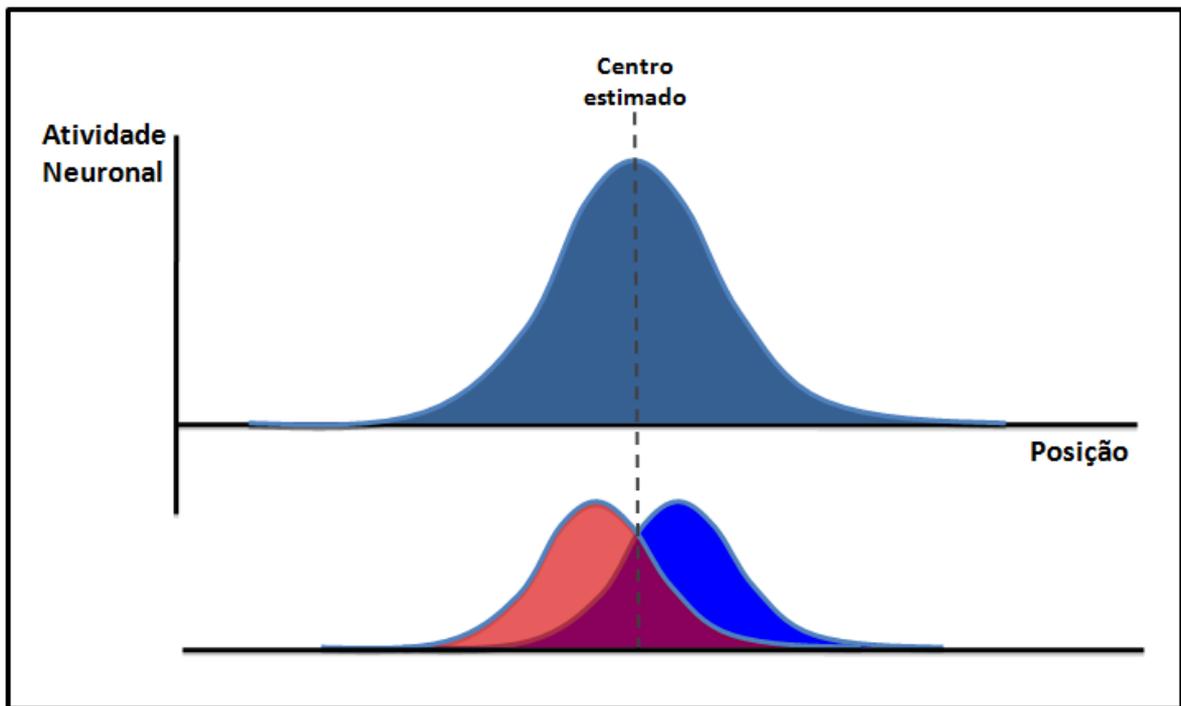


Figura 7. Padrão de Disparos no Campo Receptivo. Acima está representado o padrão de atividade quando o animal cruza um campo receptivo segundo a análise do somatório do total de disparos durante a sessão. A partir dessa imagem é possível estimar o centro do campo receptivo como sendo o local de maior atividade neuronal. A figura inferior mostra que é possível formar o padrão acima mesmo que existam duas distribuições de atividade distintas que, se somadas, aparentam ser uma única distribuição. Note que o centro estimado não está de acordo com o centro das distribuições inferiores, as quais representam, cada uma, a atividade neuronal de passagens individuais pelo campo.

Os primeiros estudos que analisaram individualmente as passagens dos ratos pelos campos receptivos identificaram padrões de atividade variáveis que representam um deslocamento do padrão esperado pelo somatório total (Muller e Kubie, 1989; Ferbinteanu e Shapiro, 2003; Battaglia, Sutherland e McNaughton, 2004). Esses deslocamentos foram compreendidos como distintos modos de atividade neuronal: um

modo prospectivo, quando a atividade é maior antes do centro estimado; e um *modo retrospectivo*, quando a atividade é maior após o centro estimado.

Atualmente acredita-se que os distintos modos de atividade, encontrados inclusive em células de grade (De Almeida *et al.*, 2012), façam parte de dois sistemas: um sistema de planejamento de trajetória e projeção mental (*mind travel*) (modo prospectivo) (Johnson e Redish, 2007; Brown, Hasselmo e Stern, 2014; Sanders *et al.*, 2015); e um sistema de processamento de memórias (modo retrospectivo) (Ferbinteanu e Shapiro, 2003; De Almeida *et al.*, 2012).

Apesar de estar evidenciada a capacidade do hipocampo, através das células de lugar, de realizar planejamento de trajetória e escolhas de caminhos apropriados tanto pela atividade em modo prospectivo (Ainge *et al.*, 2012) quanto pelo padrão temporal da sequência Teta (Ceï *et al.*, 2014; Wikenheiser e Redish, 2015), análises mais aprofundadas dos padrões de disparo, formas, e correlações espaciais e temporais entre campos receptivos são prejudicadas pelo fato desses trabalhos serem realizados em experimentos de trajetórias unidimensionais, ou seja, os campos receptivos só aparecem quando o animal está voltado para uma direção, e isso dificulta a análise dos campos.

Para identificar se uma célula de lugar dispara em modo prospectivo ou retrospectivo é necessário utilizar como ponto de referência o centro calculado do campo receptivo. Porém o cálculo desse centro é prejudicado em trajetórias unidimensionais, pois há um viés para o lado do modo prevalente. O ideal para realizar essas análises são experimentos em campo aberto, onde o animal possui liberdade de movimento e os campos receptivos possuem caráter não direcional e bidimensional.

2. Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

Estudar os modos de atividade em células de lugar no hipocampo de ratos e avaliar as relações espaciais, temporais e comportamentais desses neurônios.

2.2 Objetivos Específicos

- Construir uma metodologia computacional aplicável na análise dos modos de atividade de células de lugar para qualquer grupo de dados semelhantes;

- Verificar a existência dos modos de atividade nas células de lugar nas regiões CA3 e CA1 do hipocampo em experimentos de campo aberto;

- Analisar a correlação entre os modos de atividade e características espaciais, temporais e comportamentais, como por exemplo, tamanho dos campos receptivos, duração das seções de trajetória analisadas e velocidade do animal, respectivamente;

- Verificar se os modos de atividade são características individuais ou de rede através da correlação temporal entre a ocorrência dos mesmos.

Figura 8. Desenho Experimental. Os ratos movem-se livremente em um ambiente de campo aberto enquanto os experimentadores lançam recompensas alimentares em posições aleatórias do ambiente. A trajetória do animal, bem como a atividade de dezenas de neurônios é gravada. Previamente, os animais são implantados com microeletrodos para captura da atividade neuronal durante as sessões.

3.2 Processamento de Dados

3.2.1 Computando o Mapa de Ocupação

O mapa de ocupação (MO) consiste no cálculo de um histograma composto por superfícies Gaussianas do total de tempo que o animal permanece em cada ponto da área total do experimento (Figura 9). Em nossas análises, cada ponto equivale a 1cm². O cálculo do mapa de ocupação é dado por:

$$MO_{(x,y)} = \sum_{i=1}^{npos} e^{-\left(\frac{(x-x_i)^2}{2\sigma^2} + \frac{(y-y_i)^2}{2\sigma^2}\right)} \quad (1)$$

onde $npos$ é o total de pontos de análises do ambiente (180cm), (x_i, y_i) são as coordenadas espaciais no mapa, e $\sigma = 5\text{cm}$ é o desvio padrão (esse valor é escolhido para garantir detalhamento e suavidade ao mapa, visto que a variável representa de modo aproximado o raio das Gaussianas).

Através da luz emitida por um LED colocado sobre a cabeça dos ratos, a posição do animal pode ser descrita durante as sessões a uma frequência de 40Hz.

Visto que a análise da atividade de células de lugar está relacionada à movimentação do animal, toda trajetória na qual os animais se movem com velocidade

inferior a 5cm/s foi removida da construção dos mapas de ocupação e subsequentes análises.

Além disso, a trajetória com proximidade às bordas do ambiente igual ou inferior ao σ é excluída do cálculo da ocupação para que não haja deformidade no cálculo do mapa.

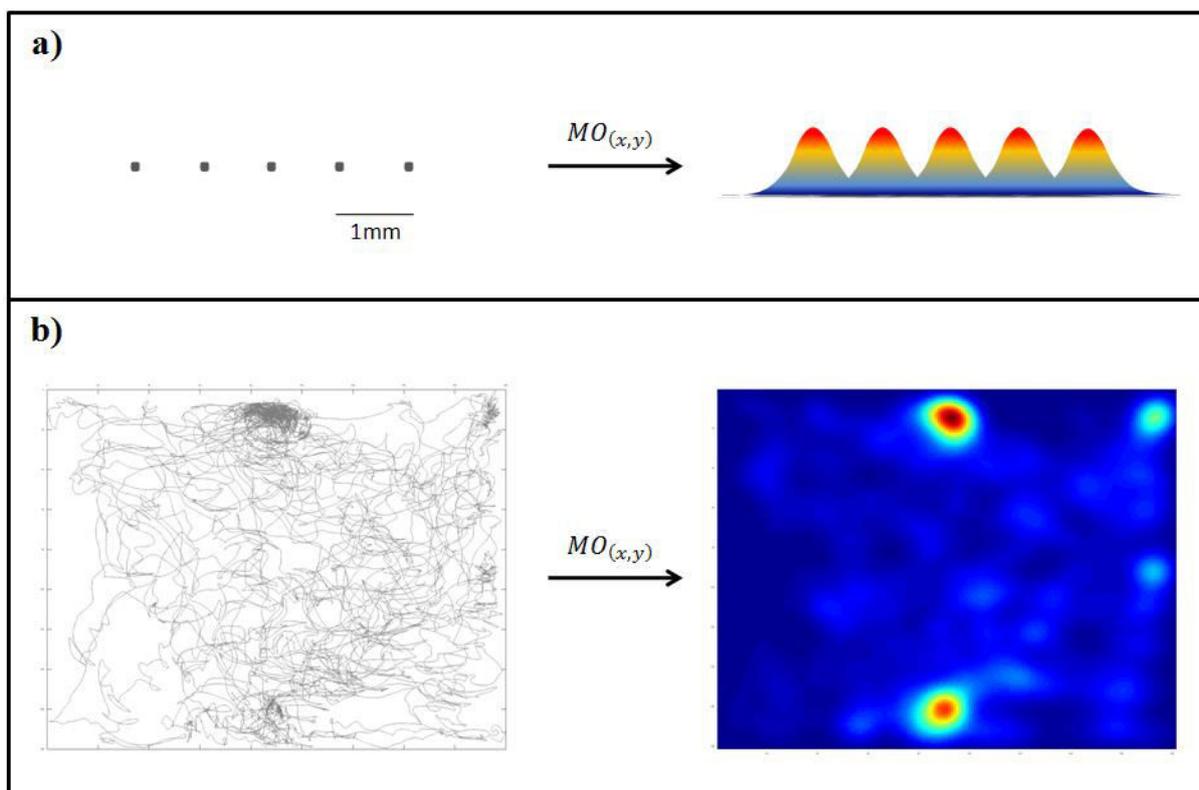


Figura 9. Construção do Mapa de Ocupação. a) Cada ponto à esquerda representa um ponto da trajetória (x,y) do animal. Após passar pela função, esses pontos transformam-se em superfícies gaussianas bidimensionais, as quais são somadas para construção do mapa de ocupação. b) À esquerda, as linhas cinzas representam toda trajetória válida de uma sessão; à direita, o mapa de ocupação construído para esta sessão. O mapa de cores mostra valores para cada ponto os quais representam o tempo que o animal permaneceu naquela posição. Azul marinho=menor valor, Vermelho=maior valor.

3.2.2 Cálculo do Mapa de Atividade

O mapa de atividade (MA) de cada neurônio foi calculado como a razão entre o histograma de Gaussianas de todos os potenciais de ação do neurônio durante a sessão e o mapa de ocupação (Figura 10), tal que:

$$MA_{(x,y)} = \frac{\sum_{i=1}^{npa} e^{-\left(\frac{(x-x_i)^2}{2\sigma^2} + \frac{(y-y_i)^2}{2\sigma^2}\right)}}{MO_{(x,y)}} \quad (2)$$

onde npa é o total de potenciais de ação do neurônio durante a sessão, (x_i, y_i) é a posição do animal no momento do disparo, $\sigma = 5\text{cm}$ é o desvio padrão, e $MO_{(x,y)}$ é a ocupação no ponto (x,y) . As variáveis x e y variam de 1 a 180, abrangendo todos os pontos do mapa.

Em concordância com o MO, para o cálculo do MA os disparos ocorridos quando o animal se move com rapidez inferior a 5cm/s ou está próximo às bordas foram removidos.

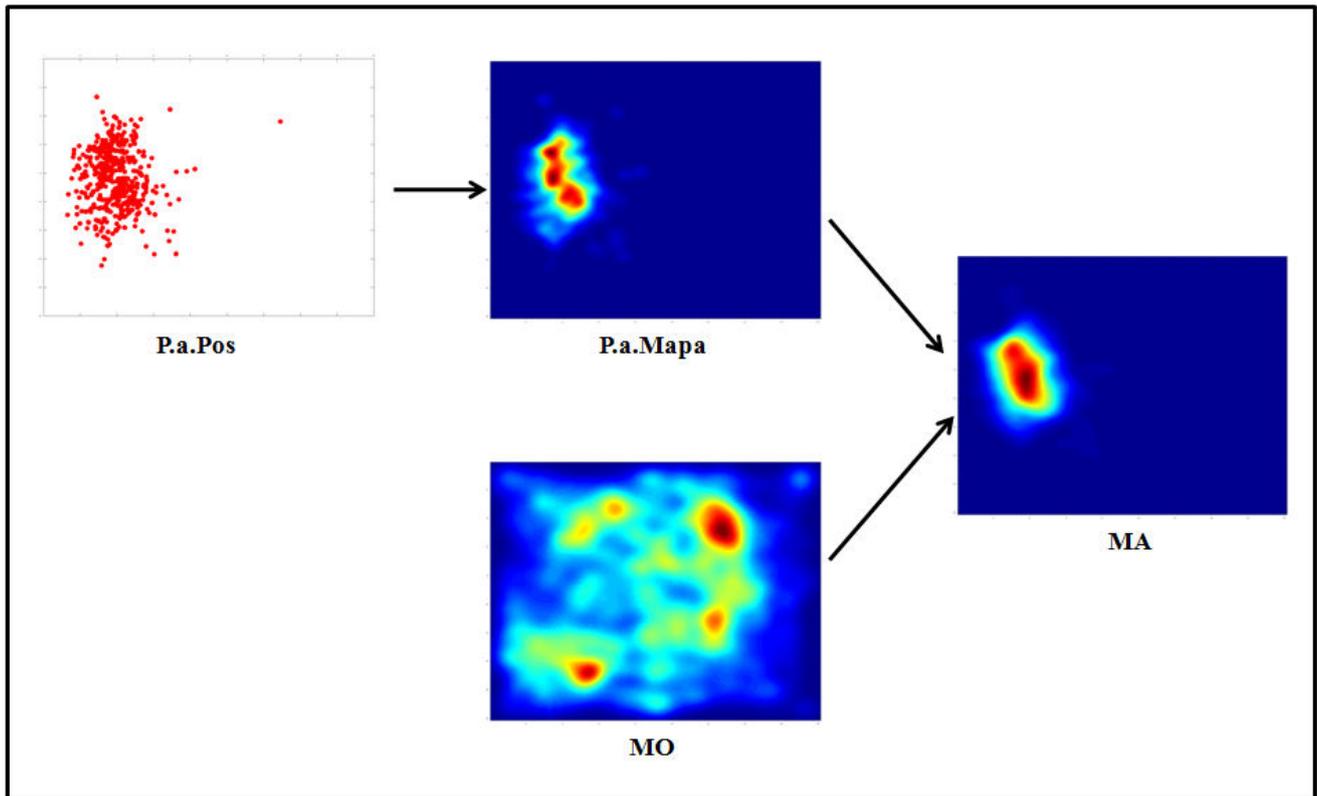


Figura 10. Construção do Mapa de Atividade Neuronal. P.a.Pos representa a posição de todos os potenciais de ação de um neurônio durante uma sessão, este é transformado em uma superfície gaussiana (P.a.Mapa). Os valores desta superfície de disparos são posteriormente divididos pelos respectivos valores do Mapa de Ocupação (MO), resultando no Mapa de Atividade (MA) do neurônio.

3.2.3 Selecionando Células de Lugar

Para distinguir se a atividade dos neurônios representa células de lugar utilizamos três de seleção. O primeiro diz respeito à frequência de disparos do neurônio: células com menos 0,1 disparos por segundo (0,1Hz) são excluídas das análises. O segundo consiste em comparar os mapas de atividade gerados pela metade inicial da sessão e outro gerado pela metade final da sessão: os mapas são comparados através do coeficiente de correlação bidimensional, calculado por:

$$corr = \frac{\sum_x \sum_y (A_{xy} - \bar{A})(B_{xy} - \bar{B})}{\sqrt{\left(\sum_x \sum_y (A_{xy} - \bar{A})^2\right) \left(\sum_x \sum_y (B_{xy} - \bar{B})^2\right)}} \quad (3)$$

onde A é o mapa de atividade da primeira metade da sessão e B o mapa da metade final; \bar{A} e \bar{B} são as respectivas médias dos mapas.

Todos os neurônios com coeficiente de correlação inferior a 0,3 foram considerados como não sendo células de lugar e foram excluídos das análises (o ponto de corte foi escolhido através da análise visual de células de lugar com campos receptivos bem definidos, as quais apresentaram coeficiente acima de 0,3).

Para evitar a seleção de neurônios com atividade alta e espacialmente homogênea (como neurônios inibitórios, por exemplo) todas as células cujas regiões com atividade acima de 40% do ponto de máxima atividade excedam 25% do total da área foram removidas das análises também (dessa maneira também são desconsideradas possíveis células de lugar com campos receptivos muito grandes).

3.2.4 Selecionando Campos Receptivos

Diversas etapas são necessárias para se identificar e selecionar um campo receptivo (Figura 11). O primeiro passo para identificar os campos dos neurônios caracterizados como células de lugar foi aplicar uma função filtro sobre o mapa de atividade dada por:

$$F_{(x,y)} = MA_{(x,y)} * H(MA_{(x,y)} - (1 - k) * MA_{MAX}) \quad (4)$$

onde $MA_{(x,y)}$ é o mapa de atividade, MA_{MAX} é o valor máximo do mapa de atividade, k é a atividade relativa mínima exigida pelo filtro = 20% da MA_{MAX} , e H é a função Heaviside, a qual tem valor 0 caso seu resultado seja negativo e valor 1 caso seu resultado seja não negativo.

Desse modo, o mapa de atividade filtrado conserva os campos receptivos em potencial e desconsidera as áreas que representam ruídos. Para identificar cada um dos possíveis campos receptivos foi utilizada uma função de reconhecimento de imagem sobre o mapa de atividade filtrado (Haralick e Shapiro, 1992). O centróide de cada campo é calculado como o ponto central da imagem resultante.

Para que seja considerado um campo receptivo, uma região com alta atividade precisa ocupar uma área mínima, por isso todos os campos com área inferior a 200cm² foram desconsiderados.

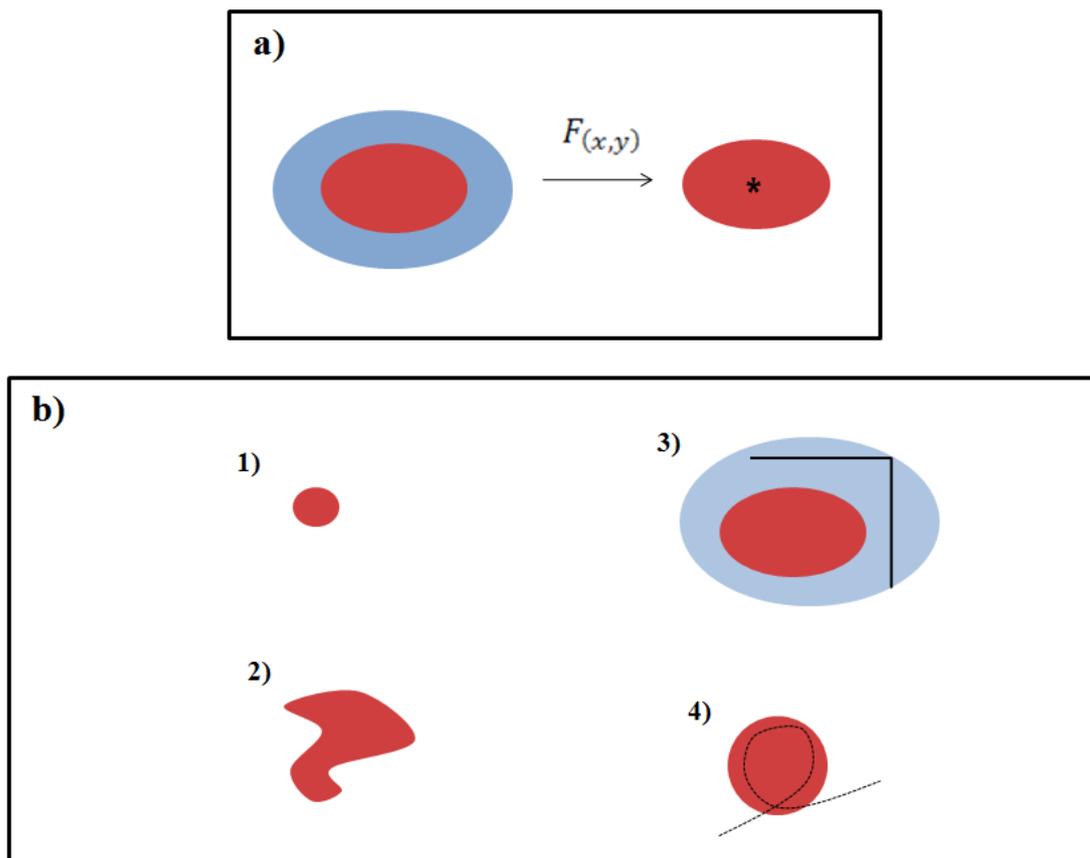
O número de campos receptivos com formas geométricas que destoam muito de um círculo presentes nos dados foi muito alto. Estes campos não puderam ser utilizados porque alteram a percepção do centróide e dificultam a análise das corridas, pois não possuem o padrão de atividade descrito para uma célula de lugar padrão. Desse modo foi estipulado um ponto de corte para o valor de esfericidade dos campos receptivos, o qual foi calculado como:

$$Esfericidade = \frac{(4\pi * \text{Área})}{(\text{Perímetro}^2)} \quad (5)$$

Todos os campos com valor de esfericidade inferior a 0,5 foram removidos das análises.

Outro fator de seleção de campos receptivos foi a proximidade dos campos em relação às bordas do ambiente. Campos muito próximos às bordas podem ser disformes quanto ao perfil de atividade, interferindo nas análises dos modos de atividade. Os campos selecionados possuem uma distância mínima entre o centróide e as bordas correspondente ao seu raio acrescido de 5 cm.

Além disso, como o mapa de atividade é dependente do mapa de ocupação, é possível que uma área de alta atividade seja ocasionada por uma salva de potenciais de ação quando o rato passa por uma determinada região. Esse tipo de atividade não pode ser considerada como um campo receptivo de uma célula de lugar, pois não há amostragem suficiente. Para nos certificarmos de que realmente trata-se de um campo receptivo, consideramos os campos nos quais o valor do mapa de ocupação no ponto correspondente ao centróide do respectivo campo precisa ser igual ou superior a 10% do valor do ponto de máxima ocupação.



*Figura 11. Seleção de Campos Receptivos. a) Quando a função filtro é aplicada ao MA apenas a área de maior atividade do campo receptivo permanece, e sobre esta área são calculados os parâmetros dos campos receptivos. O asterisco marca o centróide do campo. b) Parâmetros de exclusão de campos receptivos. **b1)** campos pequenos podem surgir de atividade aleatória; **b2)** campos de geometria irregular possuem padrão de atividade incompatível com a análise dos modos; **b3)** campos próximos às bordas podem codificar para áreas além dos limites da sessão; **b4)** campos gerados com pouca trajetória não são estatisticamente confiáveis.*

3.2.5 Selecionando Corridas

Para que o estudo dos modos de atividade fosse realizado, selecionamos trechos de trajetória, que chamamos de corridas, nos quais o animal se desloca próximo ao

centro de um campo receptivo de uma célula de lugar e analisamos os disparos ocorridos durante esses trechos (Figura 12 a).

A seleção das corridas próximas aos campos receptivos compreende diversas etapas. Primeiramente selecionamos todos os trechos de trajetória que passam a menos de 5cm do centro de qualquer campo receptivo. Após, verificamos qual o ponto mais próximo do centro para todos os trechos selecionados, esse é o ponto central da corrida. A partir do ponto central, recortamos a trajetória antes e após o mesmo em distâncias equivalentes ao raio do campo receptivo em questão (Figura 12 a). Esta última etapa evita que as corridas apresentem atividade neuronal relacionada a mais de um campo receptivo para o mesmo neurônio.

Ainda, para que a corrida seja válida é preciso que a trajetória seja razoavelmente linear, pois a análise dos modos de atividade só pode ser realizada considerando que o animal cruza o campo receptivo em linha reta. Para isso, calculamos a distância entre as posições inicial e final da corrida e comparamos com o comprimento da corrida. Para que a corrida seja considerada linear a distância entre os pontos inicial e final precisa ser, pelo menos, 75% do comprimento da corrida (Figura 12 b).

Por último, para evitar erro amostral, todas as corridas com menos de 5 disparos foram removidas das análises.

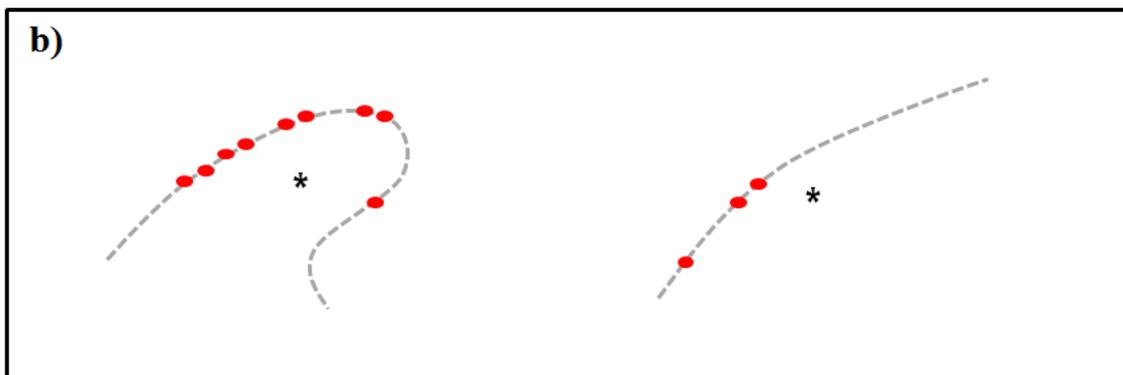
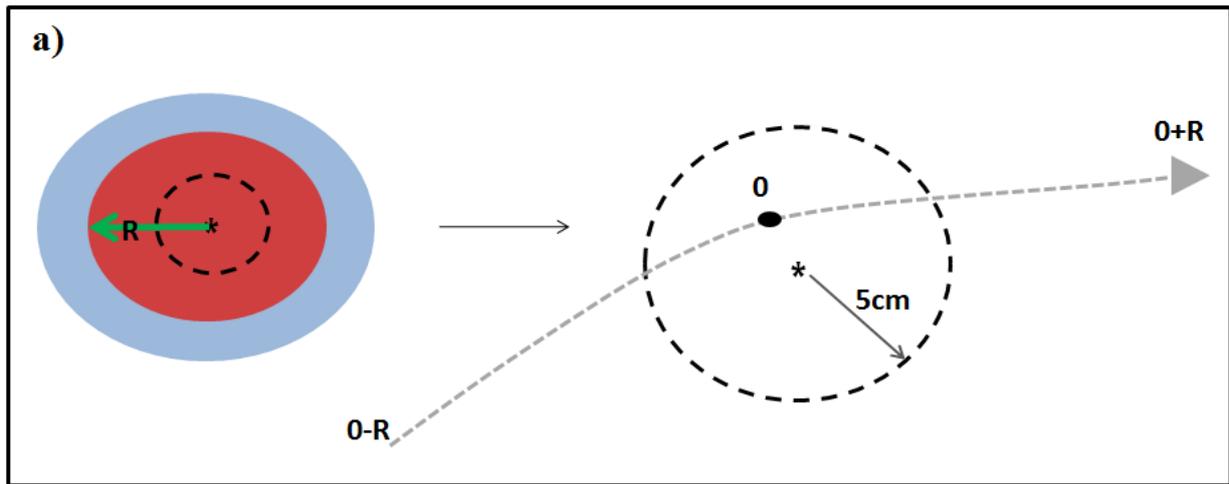


Figura 12. Seleção de Corridas. *a) Todas as trajetórias que possuem pelo menos um ponto dentro do círculo tracejado são selecionadas. O tamanho da trajetória selecionada é dimensionado pelo raio (R), o qual é aproximado pelo mapa de atividade filtrado. A partir do ponto central (0), aquele mais próximo do centróide ($*$), selecionamos uma distância R para os dois lados. b) Critérios de exclusão de corridas. À esquerda, uma corrida com curvatura muito acentuada; à direita, uma corrida com poucos disparos.*

3.2.6 Definindo os Modos de Atividade

Com as corridas selecionadas podemos avaliar o perfil de disparos das células de lugar durante cada corrida individualmente e identificar a existência ou não de modos de atividade distintos.

Os modos de atividade foram definidos seguindo a regra dos 2/3 (De Almeida *et al.*, 2012), a qual considera a atividade neuronal relacionada aos seguintes modos: *Prospectivo*, se pelo menos 2/3 dos potenciais de ação ocorrerem na primeira metade da corrida; *Retrospectivo*, se pelo menos 2/3 dos potenciais de ação ocorrerem na metade final da corrida; e *Indefinido*, caso não se enquadre nos outros modos (Figura 13).

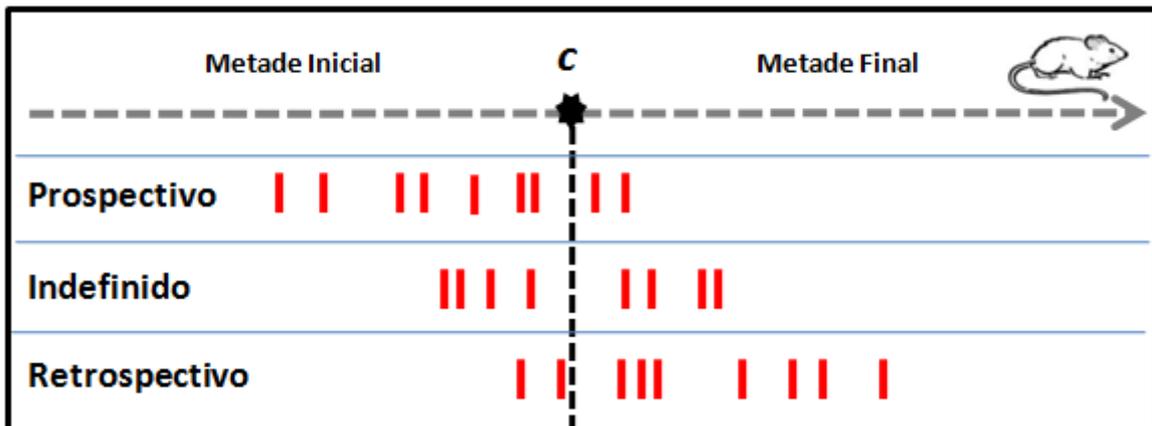


Figura 13. Modos de Atividade. Os três modos possíveis são definidos de acordo com o número de disparos do neurônio durante cada metade da corrida. A linha tracejada cinza representa a trajetória das corridas; os traços vermelhos representam a posição dos disparos durante uma corrida. O ponto "C" marca a metade, ou centro, da corrida.

4. Análises e Resultados

4.1 Considerações sobre Estatística

Para fins de significância estatística consideramos os valores de $\alpha = 0,05$ para testes envolvendo distribuição binomial (testes paramétricos), e $\alpha = 0,01$ para testes não-paramétricos. Nos gráficos, os marcadores "*" e "****" representam $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente.

Utilizamos dois modelos de testes paramétricos. Um deles é o teste de distribuição binomial, no qual a probabilidade de sucessos (ocorrência) de um evento é comparada à probabilidade obtida no modelo de teste adequado (Johnson, Kotz e W., 1993), de modo que o valor p do teste é:

$$p = Bin(n, N, P_{modelo}) \quad (6)$$

onde Bin é a função de probabilidades da distribuição binomial, n é o número de sucessos do evento nos dados, N é o número total de tentativas, e P_{modelo} é a probabilidade esperada pelo modelo utilizado. Em outras palavras, o teste mede se a proporção de eventos observada nos dados é diferente da proporção do modelo.

O outro teste utilizado é o teste-z para duas proporções, que identifica se duas proporções de amostras diferentes vêm de populações distintas. O valor de z é calculado por:

$$z = \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2)}{\sqrt{\hat{p}(1 - \hat{p}) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \quad (7)$$

onde \hat{p}_1 é a proporção observada na amostra 1, \hat{p}_2 é a proporção observada na amostra 2, n_1 e n_2 são os tamanhos amostrais das amostras 1 e 2, respectivamente, e \hat{p} é a proporção das amostras em conjunto (dada por: $(p_1n_1 + p_2n_2)/(n_1 + n_2)$).

4.2 Estatísticas Descritivas

O número de células de lugar selecionadas em CA3 e CA1 foi de 448 de um total de 2067 neurônios analisados (392 em CA3 e 1675 em CA1), distribuídas em 50 sessões de treinamento, e com um total de 722 campos receptivos válidos (média de 1,61 campos por célula).

A área média aproximada dos campos receptivos é de 707,2 cm² (d.p. 512,5cm²).

Os MA dos neurônios analisados apresentaram muita diversidade (Figura 14), sendo que a maioria dos neurônios avaliados, mesmo que visualmente representem células de lugar, acabaram sendo excluídos pelos critérios de corte estabelecidos.

O número total de corridas selecionadas e analisadas foi de 1584. O número de médio de disparos durante uma corrida foi de 16,5 (d.p. 10,9). A média do tempo de duração das corridas foi de 1,4 segundos (d.p. 0,5 segundos).

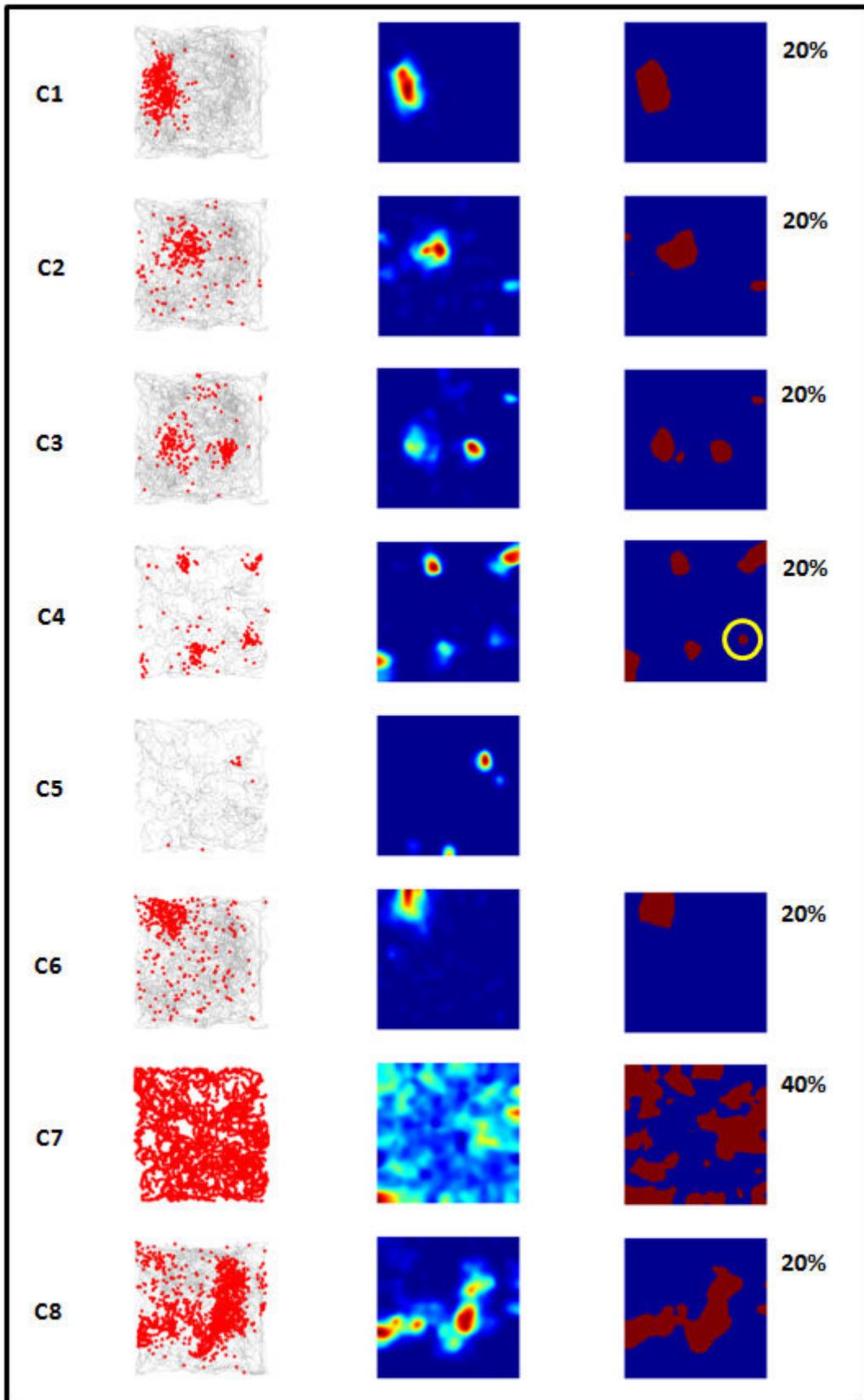


Figura 14. Padrões de Atividade de Neurônios. Cada linha mostra diferentes representações da atividade de um neurônio em CA1 (C1-C8) durante uma sessão experimental. A coluna à esquerda mostra a trajetória do animal (linhas cinza) e a posição dos potenciais de ação do neurônio (pontos vermelhos). A coluna central mostra os MA dos neurônios. A coluna à direita mostra o mapa lógico após a exclusão de todos valores do MA abaixo de 20% (ou 40% em C7), o qual mostra as regiões que possuem atividade acima do ponto de corte (em vermelho). A seleção das células de lugar e dos campos receptivos válidos é feita a partir das figuras da coluna à direita. C1 e C2 são exemplos de células de lugar com um campo receptivo selecionadas para análises; C3 é uma célula de lugar com dois campos receptivos válidos; C4 é uma célula de lugar com múltiplos campos receptivos, porém apenas dois são válidos, pois dois deles estão próximos às bordas e um possui área inferior a 200cm² (indicado pelo círculo amarelo); C5 é um exemplo de neurônio com baixa atividade durante a sessão (menos de 0.1Hz) que não é considerado nas análises; C6 representa visualmente uma célula de lugar, porém não é incluída nas análises porque seu campo receptivo está próximo à borda superior; C7 é um neurônio com atividade homogênea, aparentemente sem forte correlação espacial (este neurônio é excluído das análises porque a área do mapa lógico com atividade acima de 40% excede 25% da área total do experimento); C8 é um exemplo de neurônio com aparente correlação espacial, mas é não é considerado válido porque seu campo receptivo possui formato geométrico muito distante de um círculo (baixa esfericidade).

4.3 Análise da Rapidez Média Durante as Corridas

Antes de calcularmos os modos de atividade, fizemos a análise da rapidez dos animais durante as metades inicial e final das corridas (Figura 15). Percebemos que há uma tendência de desaceleração na porção final.

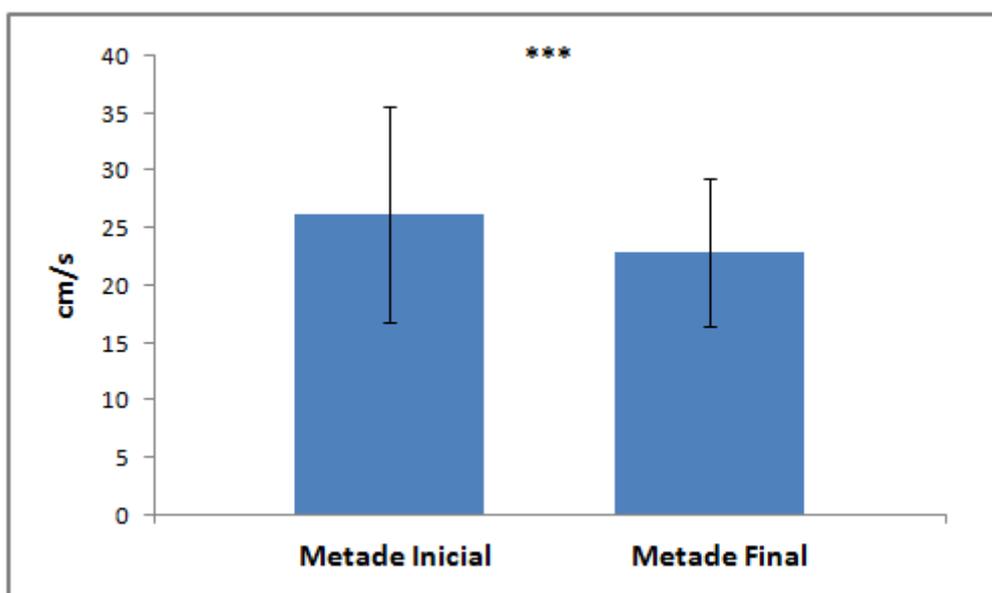


Figura 15. Rapidez Média Durante as Corridas. A rapidez média na metade inicial das corridas é de 26,3cm/s (d.p 9,4cm/s), já a rapidez média da metade final das corridas é de 22,9cm/s (d.p 6,4cm/s). A diferença entre as duas metades da corrida é estatisticamente significativa segundo o teste de Wilcoxon, com $p < 0,0001$.

Esse perfil de rapidez pode interferir no cálculo dos modos, visto que, se o rato é mais lento e com isso leva mais tempo para atravessar a metade final, o número de disparos pode ser deslocado em favor do modo Retrospectivo. Para evitar esse viés, utilizamos uma função de correção dos disparos em relação à rapidez do animal. Essa função informa o percentual corrigido de disparos no lado retrospectivo e é dada por:

$$\%RET = \frac{nret * \overline{vret}}{(npro * \overline{vpro}) + (nret * \overline{vret})} \quad (8)$$

onde $nret$ é o número de disparos na metade final da corrida, \overline{vret} é a média da rapidez na metade final da corrida, $npro$ é o número de disparos na metade inicial da corrida e \overline{vpro} é a média da rapidez na metade inicial da corrida.

4.4 Análise dos Modos de Atividade

A título de comparação realizamos a análise dos modos para os disparos diretamente extraídos dos experimentos e após serem corrigidos pela rapidez do animal (pela correção indicada acima) (Figura 16). Para as análises posteriores utilizamos sempre os dados corrigidos por rapidez.

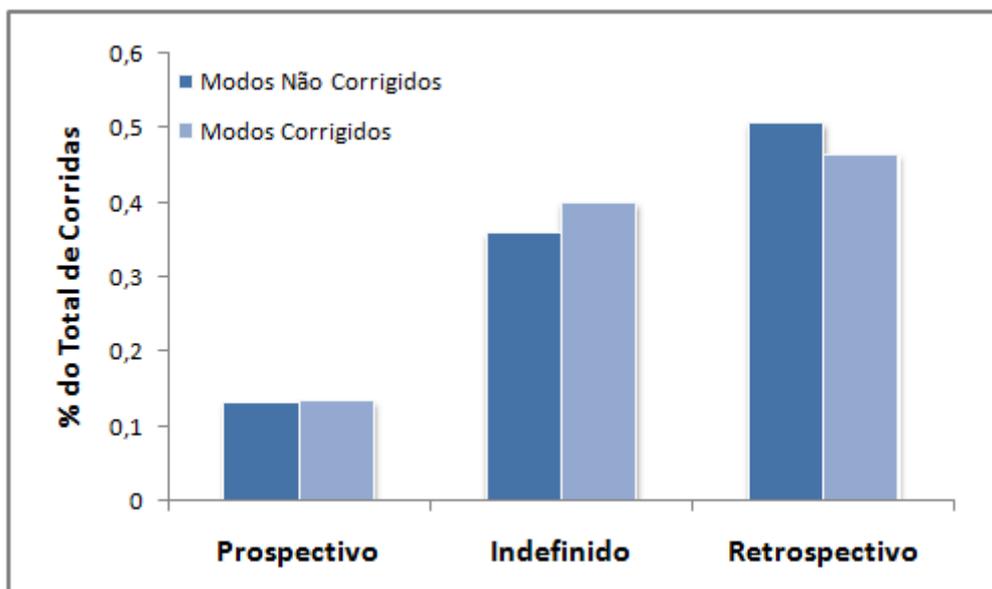


Figura 16. Comparação dos Modos Corrigidos pelo Fator Rapidez. Os modos não corrigidos apresentam proporção: Prospectivo, 13,3% (211 corridas); Indefinido,

36% (569 corridas) ; Retrospectivo, 51% (804 corridas). Os modos corrigidos apresentam proporção: Prospectivo, 13,4% (213 corridas); Indefinido, 40% (634 corridas); Retrospectivo, 47% (737 corridas). Como era de se esperar, o fator rapidez favorece a ocorrência do modo Retrospectivo, mas ainda assim não anula o desbalanço na ocorrência dos modos.

A análise das 1584 corridas mostrou uma predominância do modo Retrospectivo e baixo índice do modo Prospectivo. Para definir se os dados apresentados são estatisticamente significativos, construímos, inicialmente, um modelo de disparos aleatórios para as corridas, no qual a probabilidade dos disparos ocorrerem nas metades inicial e final das corridas é igual (50%) (Figura 17).

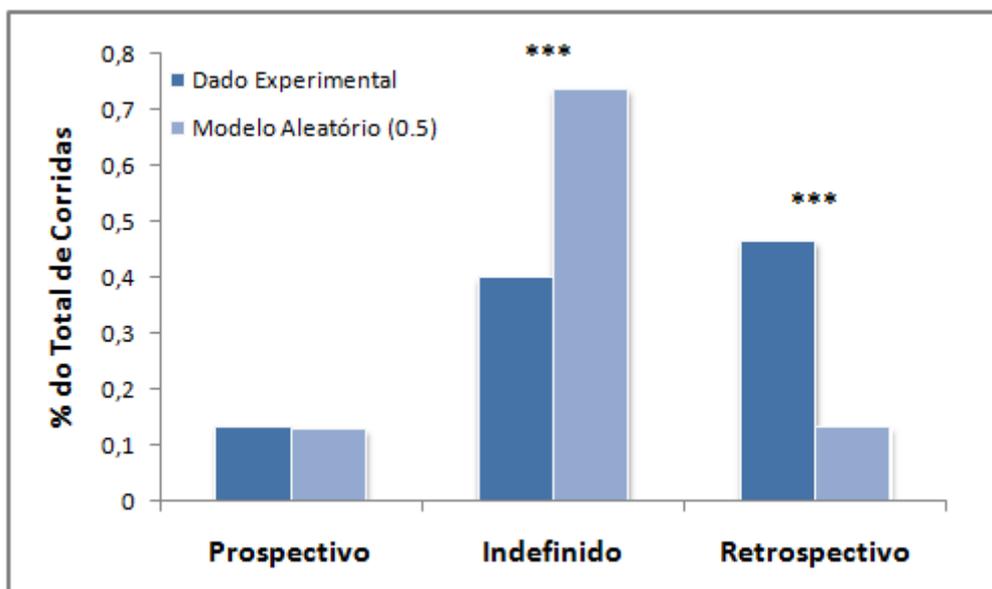


Figura 17. Comparação dos Modos com Modelo Aleatório Simples. O modelo aleatório com probabilidade 50% gera uma predominância de mais de 70% de corridas sem modo (ou Indefinido), ao mesmo tempo que os modos Prospectivo e Retrospectivo ocorrem em frequências semelhantes. Quando comparados pelo teste binomial os dados

experimentais e o modelo, nota-se diferença significativa para as corridas Indefinidas (menor nos experimentos) e Retrospectivas (maior nos experimentos) ($p < 0,0001$), enquanto que as corridas Prospectivas não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$).

Como o número de corridas Retrospectivas excede muito o número esperado, verificamos a distribuição dos disparos ao longo das corridas (Figura 18) para ajustar o modelo aleatório de acordo com a distribuição de potenciais de ação.

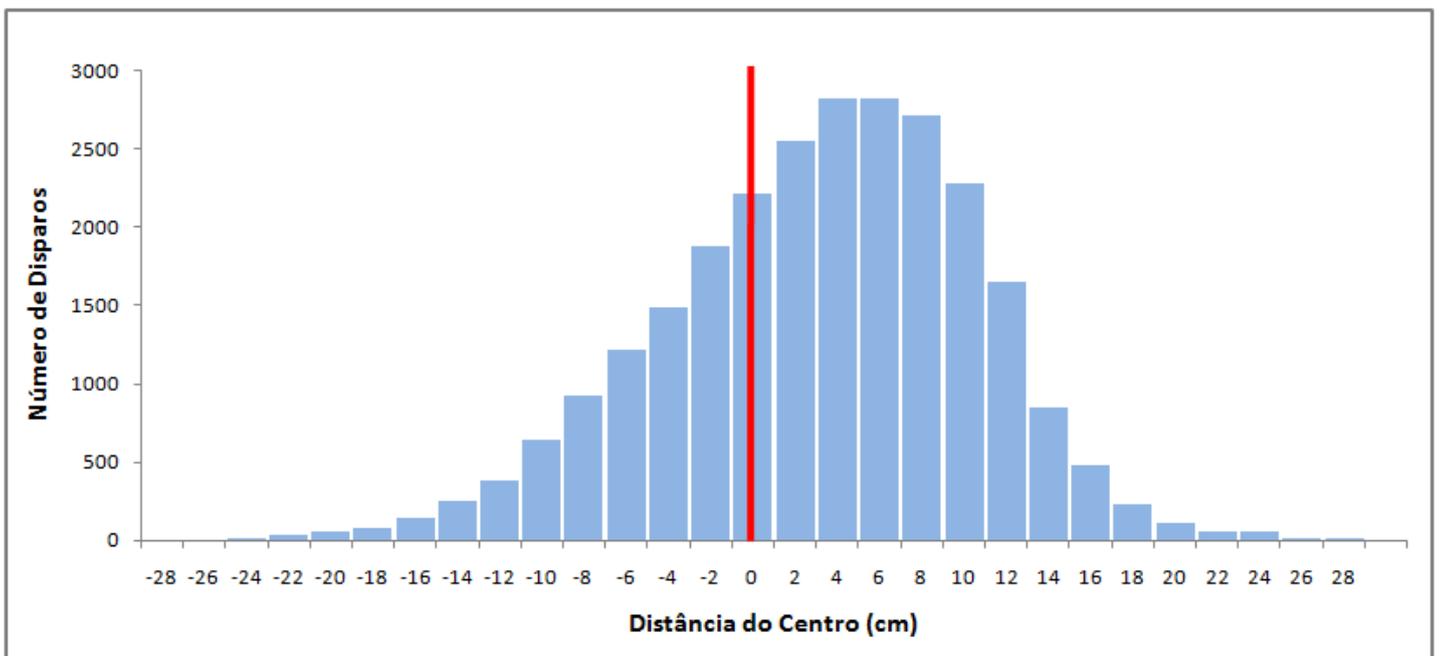


Figura 18. Histograma das Posições dos Disparos em Relação ao Centróide. O eixo horizontal mostra a distância (cm) dos disparos para o centro da corrida (0). O histograma mostra o resultado para um total de 26074 potenciais de ação, dos quais 16692 (64%) ocorrem na segunda metade da corrida.

O novo modelo aleatório considera a probabilidade de um disparo ocorrer na metade final de acordo com o histograma da posição dos disparos, ou seja, 64%. Os percentuais dos modos segundo esse modelo aleatório foram: 3,7% Prospectivo, 57% Indefinido, e 39% Retrospectivo. Quando comparados, pelo teste binomial, os dados experimentais com esse modelo, os três grupos apresentam diferenças significativas (Figura 19).

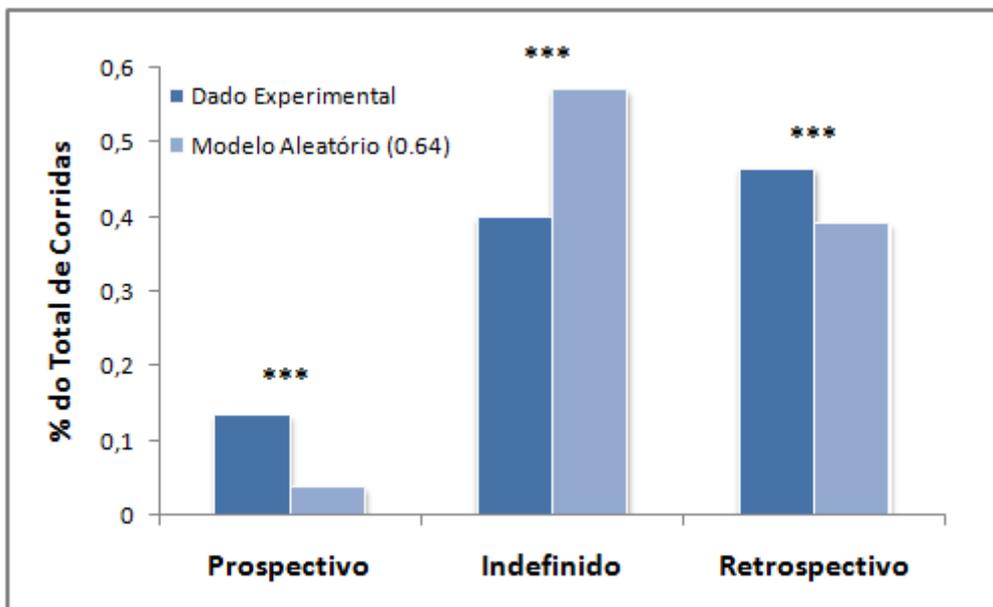


Figura 19. Modos Comparados com Modelo Aleatório com Viés Prospectivo.

De acordo com esse modelo, que se aproxima mais dos dados experimentais, o percentual de corridas Prospectivas e Retrospectivas são maiores que o esperado ($p < 0,001$), enquanto o número de corridas Indefinidas é menor que o percentual esperado por aleatoriedade ($p < 0,001$).

Esses resultados indicam que os modos de atividade não ocorrem por acaso, mas sim por alguma forma de processamento neural diferenciado.

4.5 Distribuição dos Modos por Região

Das 1584 corridas válidas, 1180 (75%) ocorreram em neurônios de CA1, enquanto apenas 404 (25%) ocorreram em neurônios de CA3. Isso ocorre principalmente pelo maior número de dados disponíveis de CA1. Como se tratam de regiões com características distintas tanto morfológicas quanto funcionais, realizamos a comparação do percentual de ocorrência dos modos para as corridas em CA3 e CA1 (Figura 20). Como nenhuma das duas distribuições representa um modelo aleatório, utilizamos o teste-z para comparar as proporções amostrais.

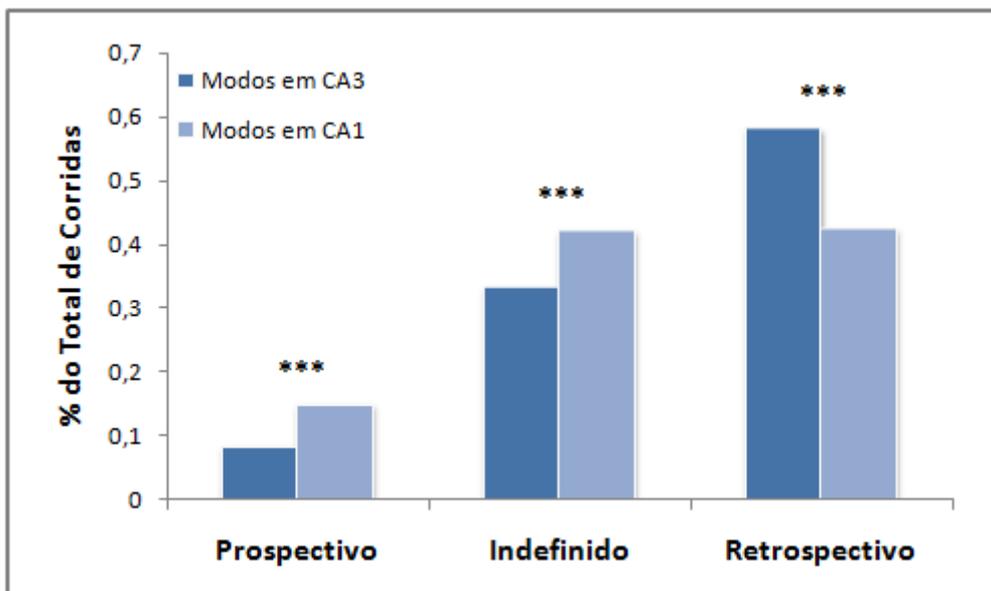


Figura 20. Modos por Região. O gráfico mostra que em CA1 há um percentual maior de corridas Prospectivas (15,2% contra 8,4% em CA3) e Indefinidas (42,3% contra 33,4% em CA3), enquanto em CA3 há um percentual maior de corridas Retrospectivas (58,2% contra 42,5% em CA1). Todas as comparações apresentam $p < 0,001$.

Esse resultado mostra que há um processamento diferenciado dos modos nas regiões CA3 e CA1. Porém para as análises seguintes utilizamos as corridas de CA3 e CA1 de maneira conjunta para não reduzir o número amostral

4.6 Área dos Campos Receptivos por Modo

Testamos se há correlação entre o tamanho dos campos receptivos e a ocorrência dos modos (Figura 21). Em média o tamanho dos campos receptivos é maior nas corridas Prospectivas quando comparadas com corridas Retrospectivas.

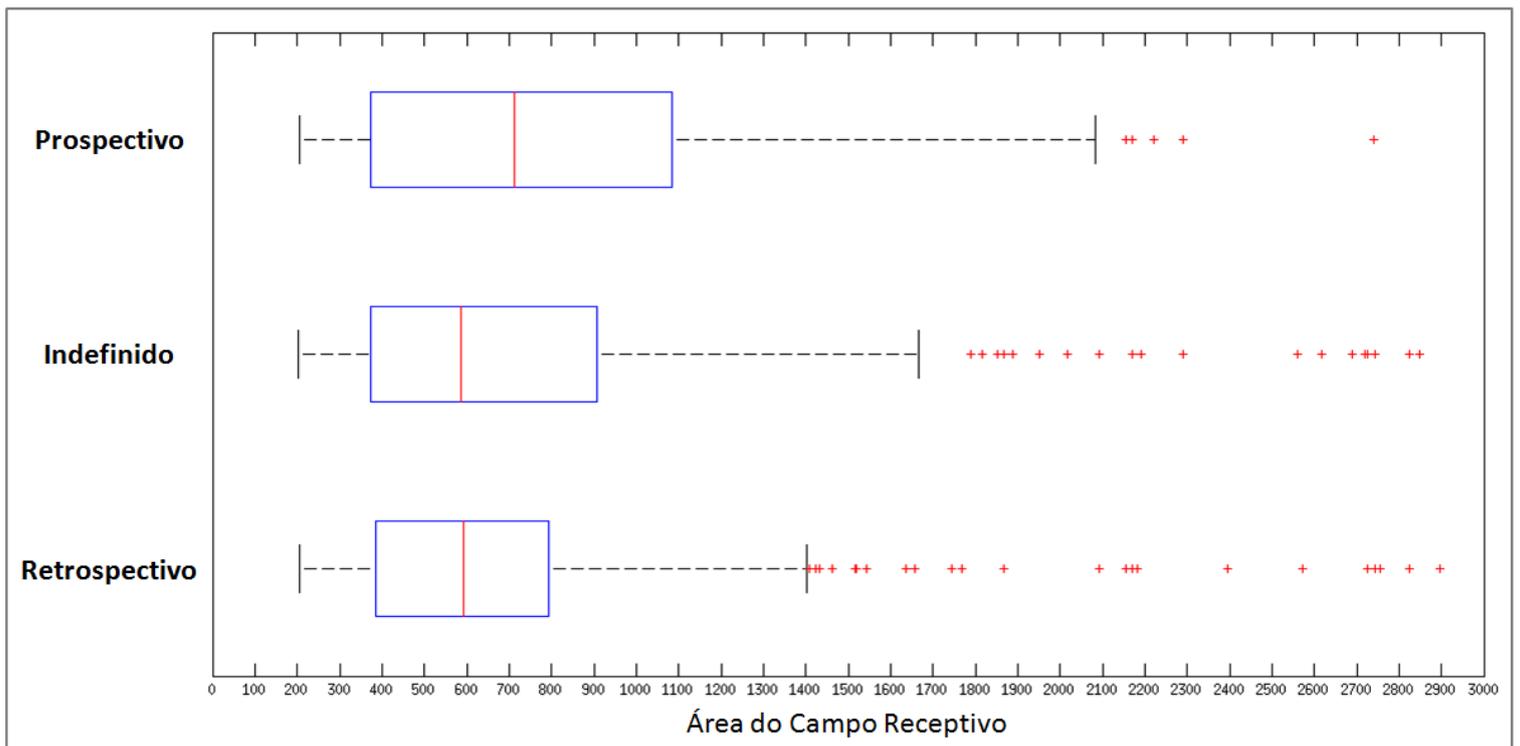


Figura 21. Área Média dos Campos Receptivos por Modo. Boxplot das áreas dos campos receptivos mostrando a distribuição dos dados em quartis. A mediana (traço vermelho) para os modos é: Prospectivo: 713cm²; Indefinido: 586,5cm²; Retrospectivo: 592cm². As áreas são estatisticamente diferentes entre os modos

Prospectivo e Retrospectivo segundo o teste de Wilcoxon ($p < 0,01$). As cruces vermelhas representam os outliers.

4.7 Perfil de Atividade das Corridas

A regra dos 2/3 permite identificar se os potenciais de ação estão ocorrendo preferencialmente em uma metade ou outra da corrida, porém não informa como estes estão distribuídos em frações menores da corrida e onde está a área de maior atividade.

Para verificar se a variação das posições dos disparos encontradas nos modos é apenas temporal, ou se o padrão de disparos é diferente na ocorrência dos modos construímos uma Superfície Gaussiana para os potenciais de ação de cada corrida descrita por:

$$PA_{(x)} = \sum_{i=0}^{nposc} e^{-\left(\frac{(x-x_i)^2}{2\sigma^2}\right)} \quad (9)$$

onde, $PA_{(x)}$ é o perfil de atividade da corrida, x são as posições dos disparos da corrida, $nposc$ é o comprimento da corrida, x_i são as posições da corrida (em intervalos de 1 cm), e $\sigma = 9\text{cm}$ é o desvio padrão.

A partir do perfil de atividade gerado é possível perceber a existência de picos de atividade nas corridas (Figura 22).

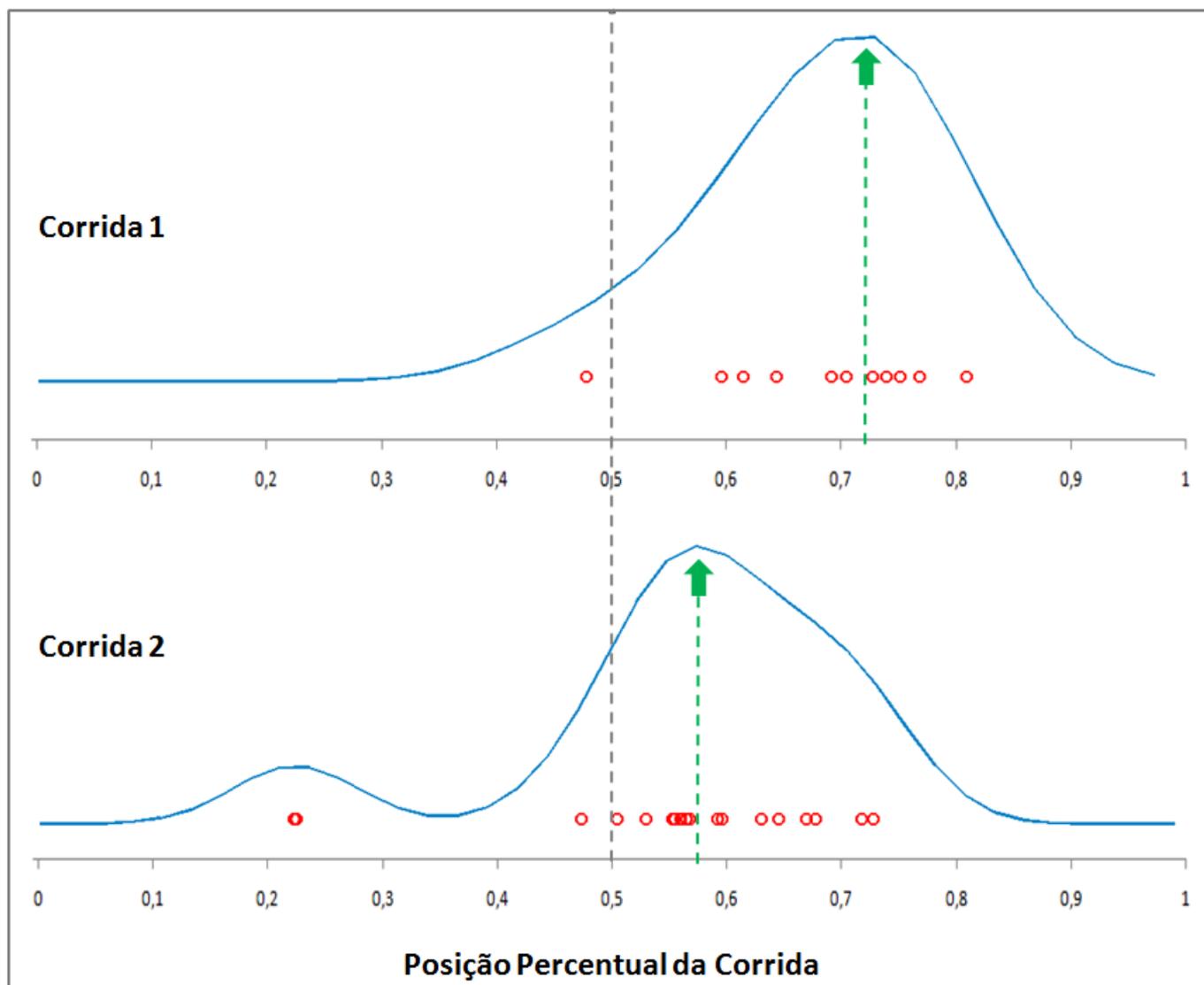


Figura 22. Perfil de Atividade. A figura representa o PA para duas corridas distintas. A linha azul representa os valores do PA; os círculos vermelhos representam as posições dos disparos durante a corrida; as setas verdes marcam o ponto de máxima atividade da corrida; a linha tracejada cinza vertical marca o ponto central das corridas. Os valores que as superfícies gaussianas assumem não possuem unidades e servem para fins comparativos dentro de cada corrida apenas.

Os PA resultantes das corridas apresentam grande diversidade no formato da Superfície Gaussiana tanto em relação aos picos quanto em relação à concentração espacial (Figura 23).

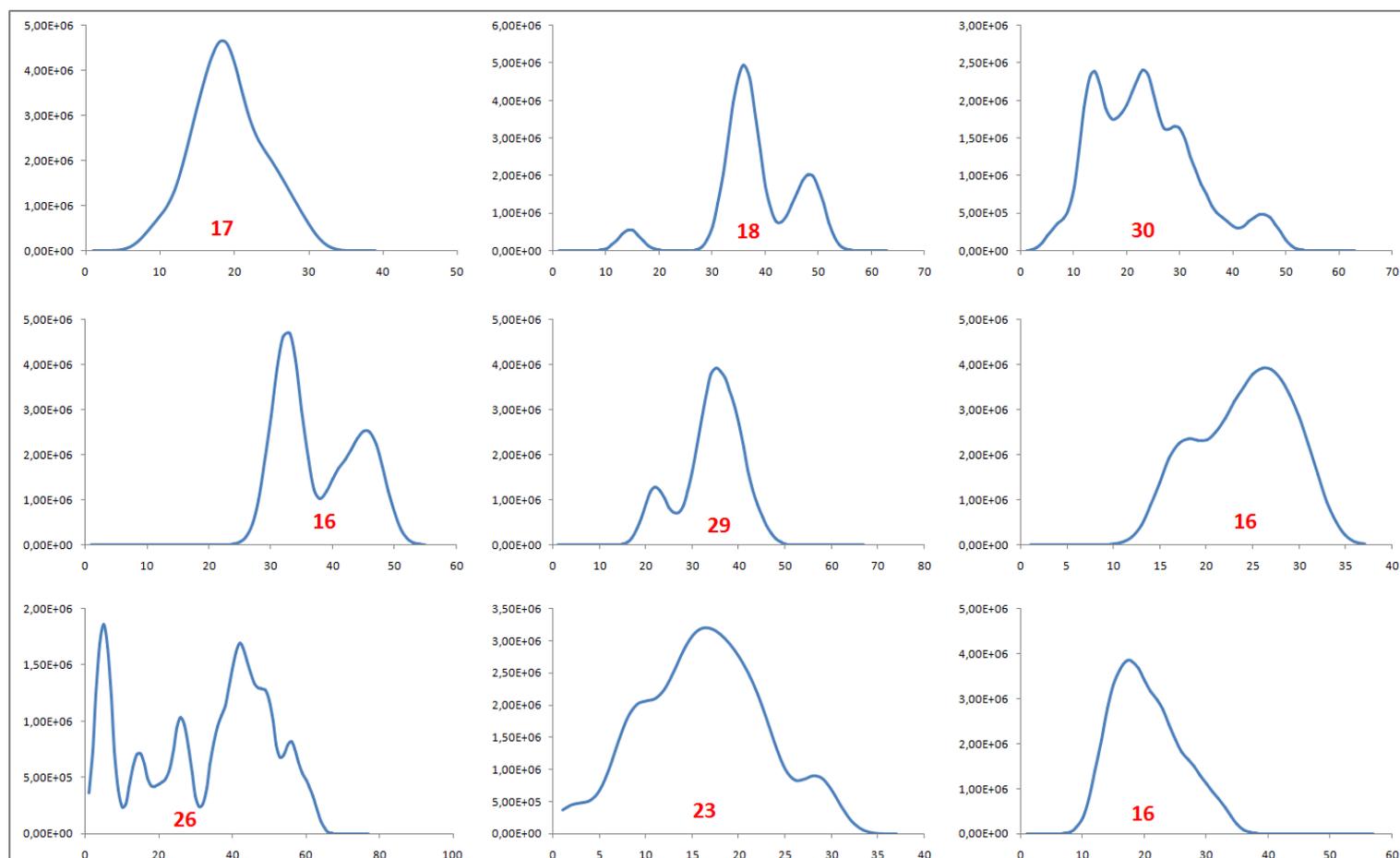


Figura 23. Variação dos PA das Corridas. Nessa figura estão representados os PA de nove corridas. Os números vermelhos representam o total de disparos de cada corrida. É possível perceber que há uma grande variação na disposição dos perfis no que diz respeito à concentração da atividade ao longo das corridas e aos picos de atividade.

Para determinar o quanto a informação na corrida é concentrada em um ponto espacial utilizamos a seguinte fórmula:

$$\frac{\sum_{i=0}^{nposc} \frac{PA_i}{PA_{MAX}}}{(nposc)(npa)} \quad (10)$$

onde, PA_i é o valor do perfil de disparos no ponto i , PA_{MAX} é o valor máximo do perfil de disparos para a corrida em questão, npa é o número de potencias de ação da corrida, e $nposc$ é o comprimento da corrida em centímetros.

Quanto mais concentrado ao redor de um ponto é o perfil de atividade, menor é o valor do cálculo de concentração. Ao contrário, quanto mais homogênea for a atividade durante a corrida, o valor de concentração é maior. O resultado mostra que o perfil de concentração das corridas é semelhante para todos os modos (Figura 24).

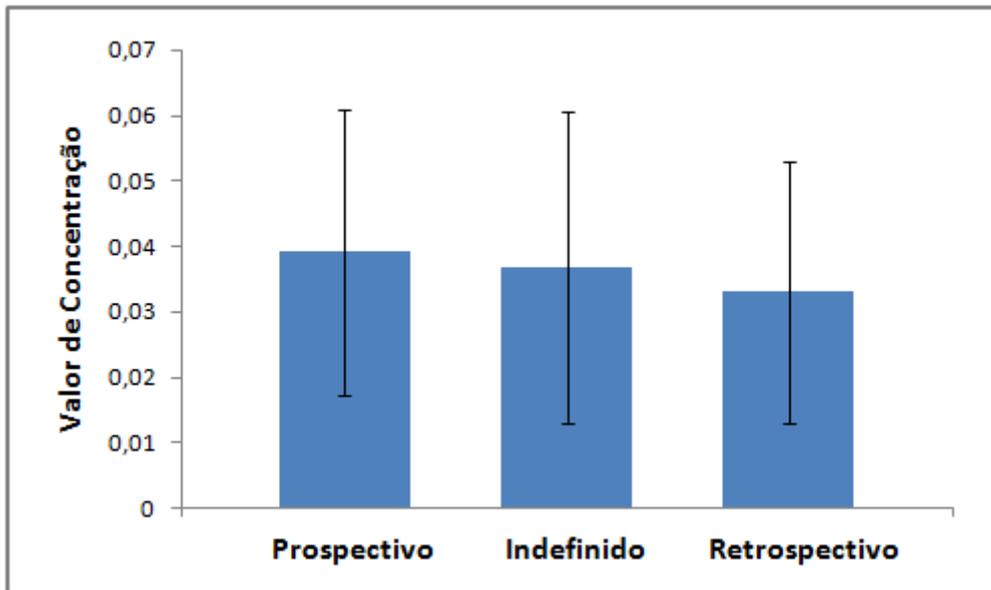


Figura 24. Média de Concentração de Disparos do PA das Corridas.
Prospectivo: média 0,039 (d.p. 0,022); Indefinido: média 0,037 (d.p 0,024); Retrospectivo: média 0,033 (d.p. 0,02). Não há diferença estatística entre os grupos segundo o teste de Wilcoxon ($p > 0,05$);

A partir dos PA calculamos também a posição dos pontos de maior atividade das corridas. Espera-se que, além dos picos de atividade estarem na metade correspondente ao modo da corrida, que a sua distância em relação ao centro seja semelhante em módulo. Calculamos a distância dos picos das corridas Prospectivas e Retrospectivas em relação ao centro como proporções do raio da corrida, sendo o valor mais distante possível igual a 0,5 e o mais próximo ao centro igual a 0 (Figura 25).

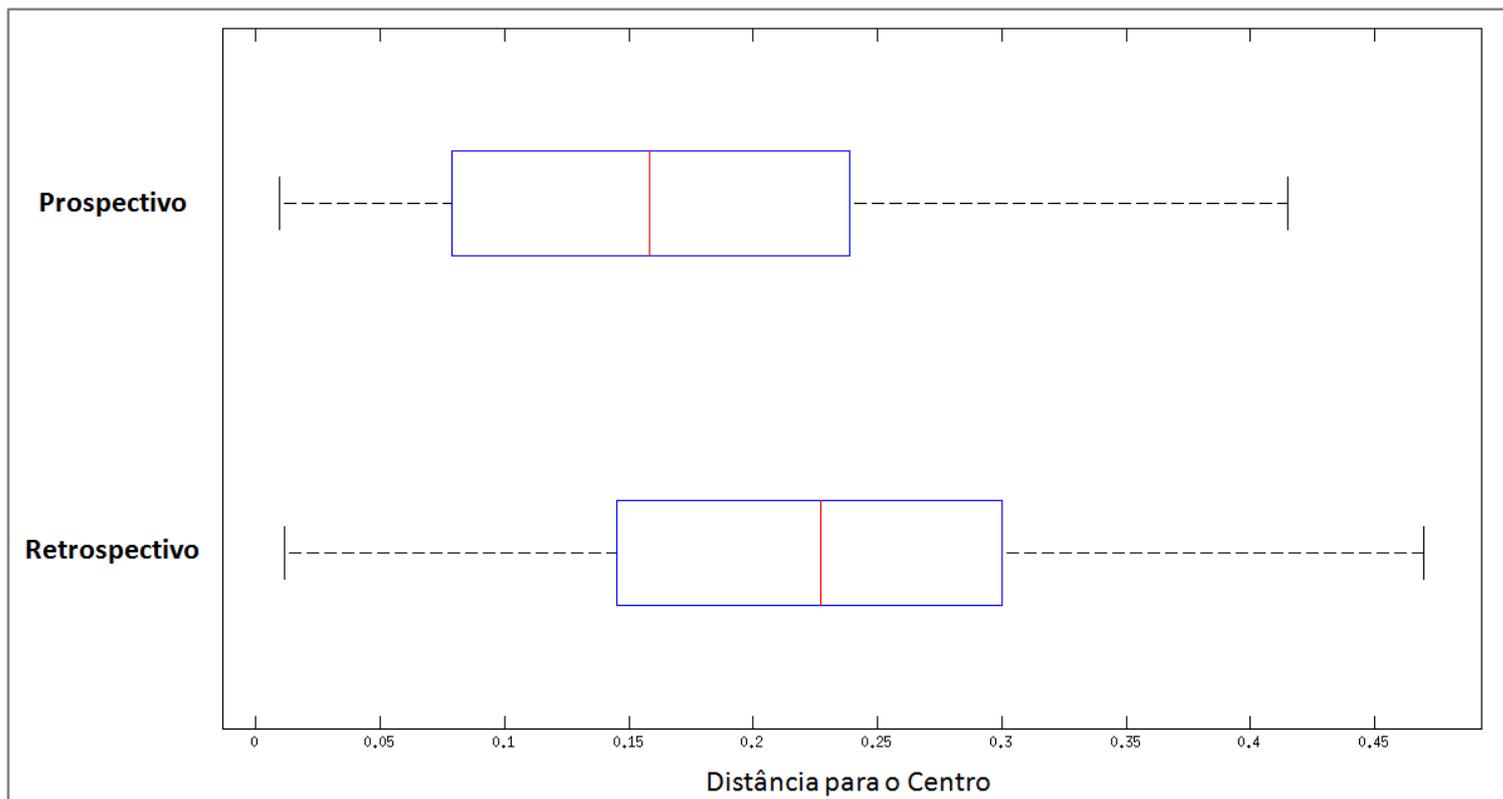


Figura 25. Distância dos Picos dos PA para o Centro das Corridas. Boxplot das distâncias relativas dos pontos de máxima atividade para o centro mostrando a distribuição dos dados em quartis. A mediana (traço vermelho) para os modos é: Prospectivo: 0,16; Retrospectivo: 0,23. As distâncias são estatisticamente diferentes entre os modos Prospectivo e Retrospectivo segundo o teste de Wilcoxon ($p < 0,00001$). É importante ressaltar que os picos do modo Prospectivo ocorrem na primeira metade da corrida, já os picos do modo Retrospectivo ocorrem na segunda metade, o que torna o parâmetro de distância para o centro ideal para realizar a comparação.

Outra análise realizada a partir dos PA foi a proporção de corridas Prospectivas e Retrospectivas com um segundo pico de atividade. Para determinar a existência de mais de um pico selecionamos todos os pontos de máxima que atingem pelo menos

50% da atividade máxima e não estão em continuidade com esse ponto após excluir todos os pontos com menos de 50% da atividade máxima (Figura 26).

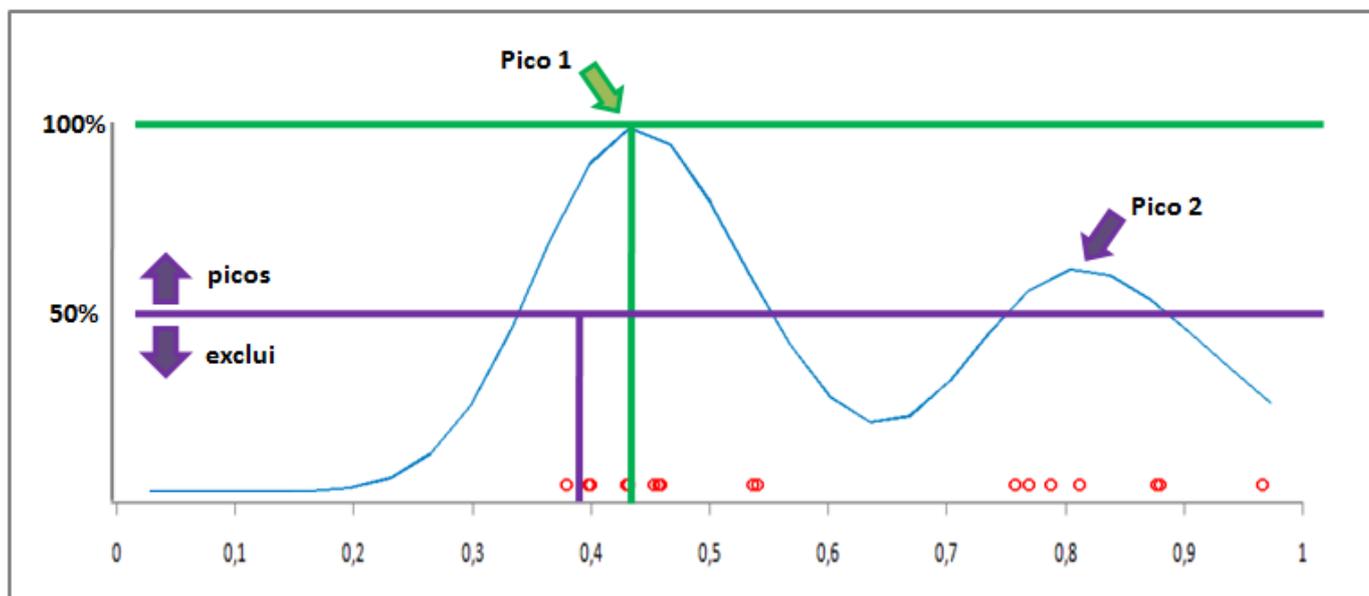


Figura 26. Selecionando Picos no PA. Representação de um PA com dois picos de atividade. As linhas verdes marcam a altura do ponto de máxima atividade do PA (100%). A partir do valor equivalente a 50%, marcado pelas linhas roxas, excluimos toda atividade com valor inferior e selecionamos picos acima desse valor. O Pico 2 só é selecionado caso haja uma descontinuidade em relação ao Pico 1 após a exclusão dos valores abaixo de 50%, como é o caso representado.

As corridas no modo Prospectivo apresentaram um percentual maior de corridas com um segundo pico de atividade em relação às corridas no modo Retrospectivo (Figura 27).

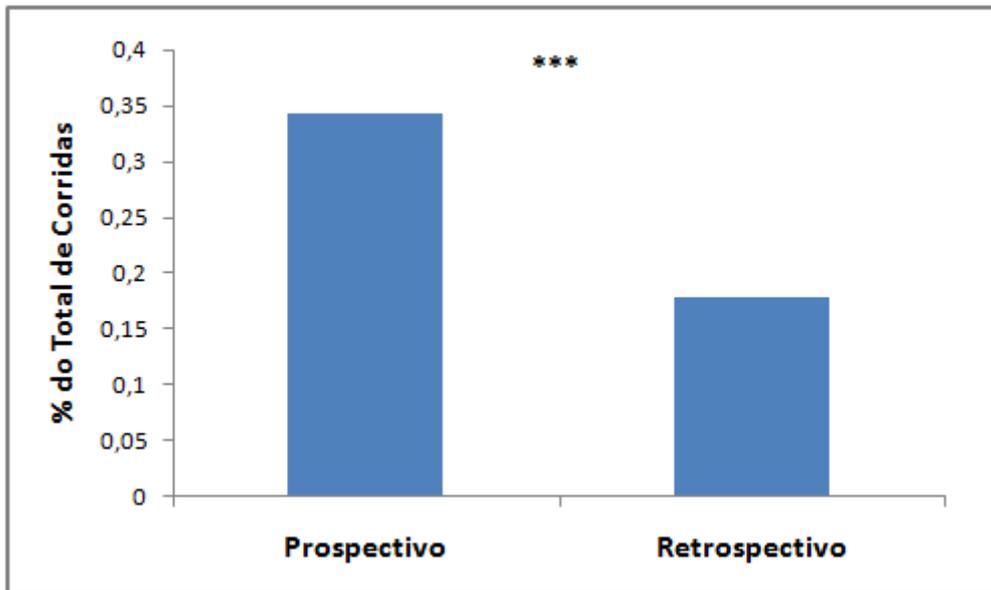


Figura 27. Corridas com Segundo Pico de Atividade por Modo. O percentual de corridas com segundo pico de atividade em corridas Prospectivas é de 34,3% (73 corridas). O percentual de corridas com segundo pico de atividade em corridas Retrospectivas é de 17,9% (137 corridas). Segundo o teste-z, as duas proporções são estatisticamente diferentes com valor $z=5,11$ ($p<0,01$).

4.8 Análise da Rapidez Média por Modo

Verificamos se há diferença na velocidade dos animais durante as metades inicial e final das corridas para os distintos modos (Figura 28). A análise é feita modo por modo, ou seja, calculamos as velocidades médias para as duas metades de todas as corridas de um único modo por vez.

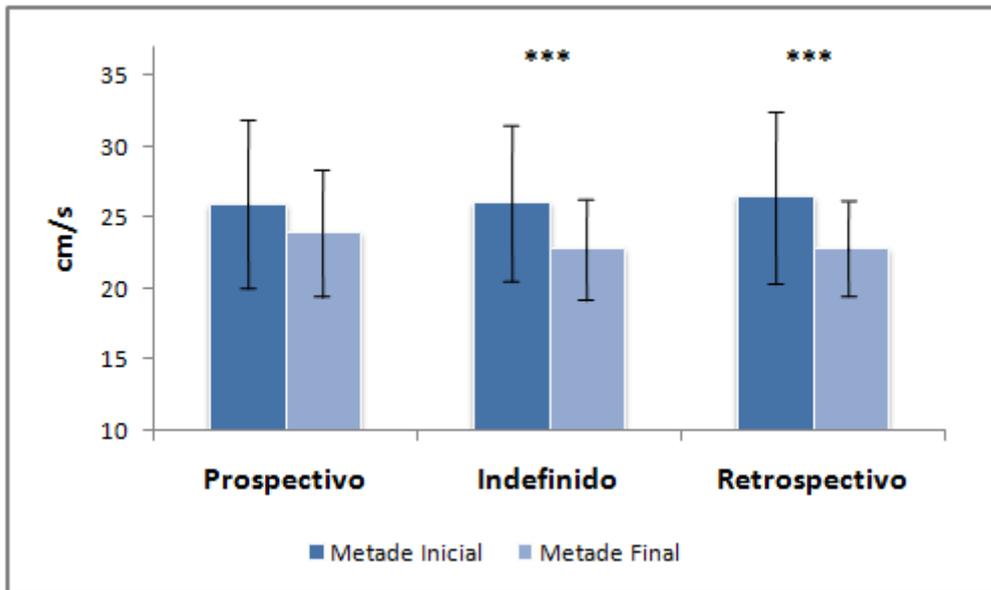


Figura 28. Rapidez Média nas Metades Inicial e Final das Corridas por Modo.

Os valores médios de rapidez para os modos são: Prospectivo, metade inicial: 26cm/s (d.p. 9,7), metade final: 24cm/s (d.p.7,6); Indefinido, metade inicial: 26,1cm/s (d.p. 9), metade final: 22,8cm/s (d.p. 6,4); e Retrospectivo, metade inicial: 26,5cm/s (d.p. 9,8), metade final: 22,8cm/s (d.p. 6,1). Para as corridas Indefinidas e Retrospectiva a velocidade média da metade final é menor que a velocidade média da metade inicial (teste de Wilcoxon, $p < 0,0001$). Já para as corridas no modo Prospectivo não há diferença estatística (teste de Wilcoxon, $p > 0,01$).

4.9 Análise da Mudança de Trajetória

Como é possível que os modos estejam relacionados a planejamento de rota, testamos se há diferença na frequência em que os animais mudam de direção antes e após as corridas. Para isso selecionamos 1 segundo de trajetória anterior e posterior às corridas e avaliamos as direções dos três segmentos de trajetória (anterior, corrida, posterior) em oito direções possíveis (Figura 29).

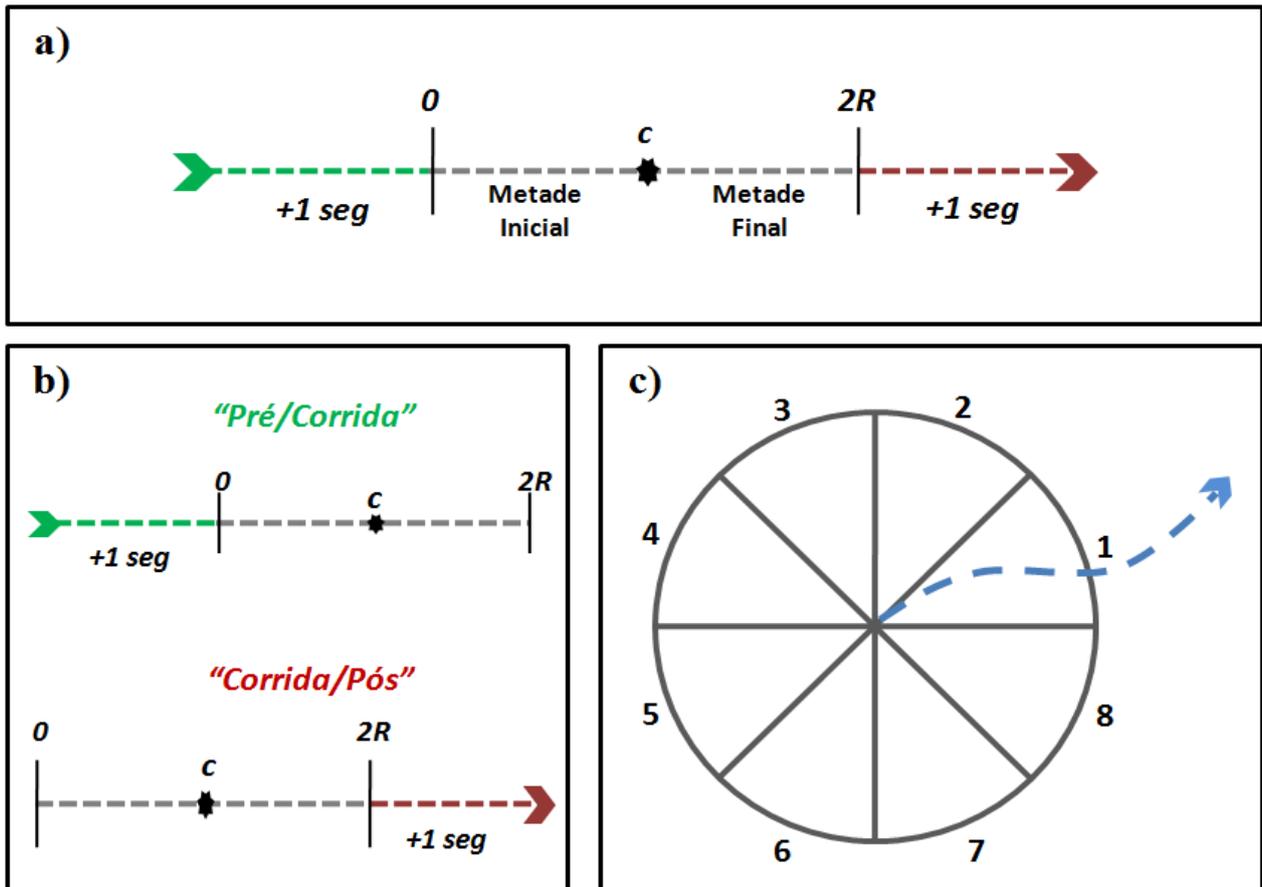


Figura 29. Metodologia de Análise da Mudança de Trajetória. *a)* A partir do ponto 0 da corrida, para trás, e do ponto final (2R), para frente, selecionamos 1 segundo de trajetória adicional para análise das direções. *b)* As análises são feitas com as seções "Pré/Corrida" (direção de 1seg pré-corrida - direção da corrida) e "Corrida/Pós" (direção da corrida - direção de 1seg pós-corrida). *c)* Diagrama das 8 direções possíveis. As direções são determinadas pela posição do primeiro e último ponto do segmento de trajetória avaliados; as seções são comparadas se os índices de direção são os mesmos ou são diferentes. A linha tracejada azul representa um segmento de trajetória na direção 1.

Como cada direção representa um arco de 45° (360/8) é esperado que na maioria das vezes o animal mude de direção. Porém havendo influência do modo Prospectivo no planejamento de rota é possível que as trajetórias sejam diferentes (Figura 30)

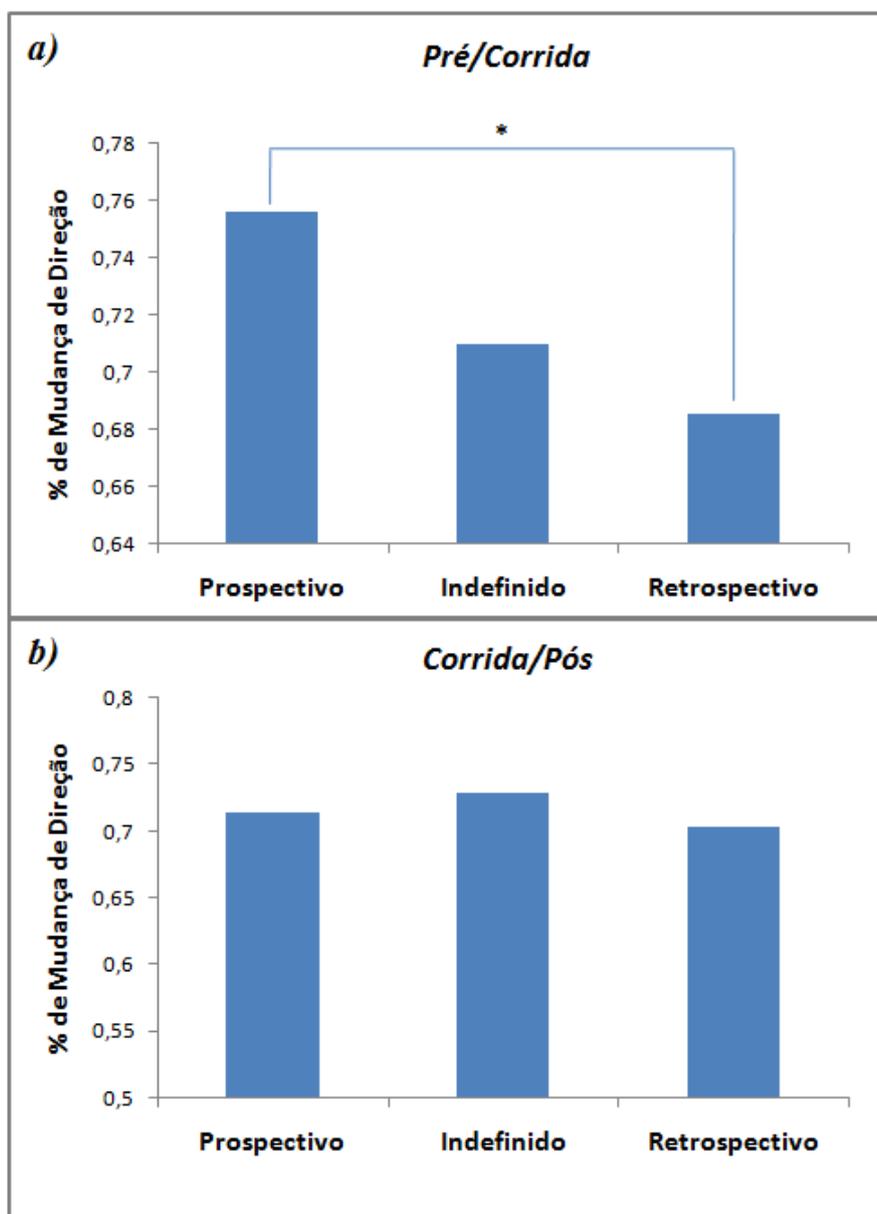


Figura 30. Análise da Mudança de Direção da Trajetória. a) Percentual de mudança de trajetória para as seções "Pré/Corrida" (Prospectivo: 75,6%, Indefinido: 71%, Retrospectivo: 68,5%). Os modos Prospectivo e Retrospectivo são significativamente diferentes segundo o teste-z ($p < 0,05$). **b)** Percentual de mudança de

trajetória para as seções "Corrida/Pós" (Prospectivo: 71,4%, Indefinido: 72,9%, Retrospectivo: 70,2%). Não há diferença estatística entre os modos segundo o teste-z.

4.10 Combinação Temporal dos Modos

Para avaliar se os modos são uma característica de rede, na qual os modos tendem a ocorrer juntos num determinado tempo, verificamos a frequência com que as corridas apresentam o mesmo modo em intervalos de tempo determinados por:

$$t_1 \leq |pt_1 - pt_2| < t_2 \quad (11)$$

onde t_1 e t_2 são os intervalos de tempo escolhidos, e pt_1 e pt_2 são os instantes nos quais o rato cruza o ponto de transição (centro) das corridas 1 e 2, respectivamente. Em nossas análises utilizamos $\Delta t (t_2 - t_1) = 1$ segundo (Figura 31).

Para essa análise só utilizamos as corridas Prospectivas e Retrospectivas, de modo que a probabilidade aleatória de combinações entre corridas pode ser calculada como:

$$p_{pro} = \left(\frac{n_{pro}}{n_{pro} + n_{ret}} \right)^2 \quad (12)$$

$$p_{ret} = \left(\frac{n_{ret}}{n_{pro} + n_{ret}} \right)^2$$

onde p_{pro} e p_{ret} são a probabilidade de combinações aleatórias entre as corridas Prospectivas e Retrospectivas, respectivamente, e n_{pro} e n_{ret} são o número total de corridas Prospectivas e Retrospectivas.

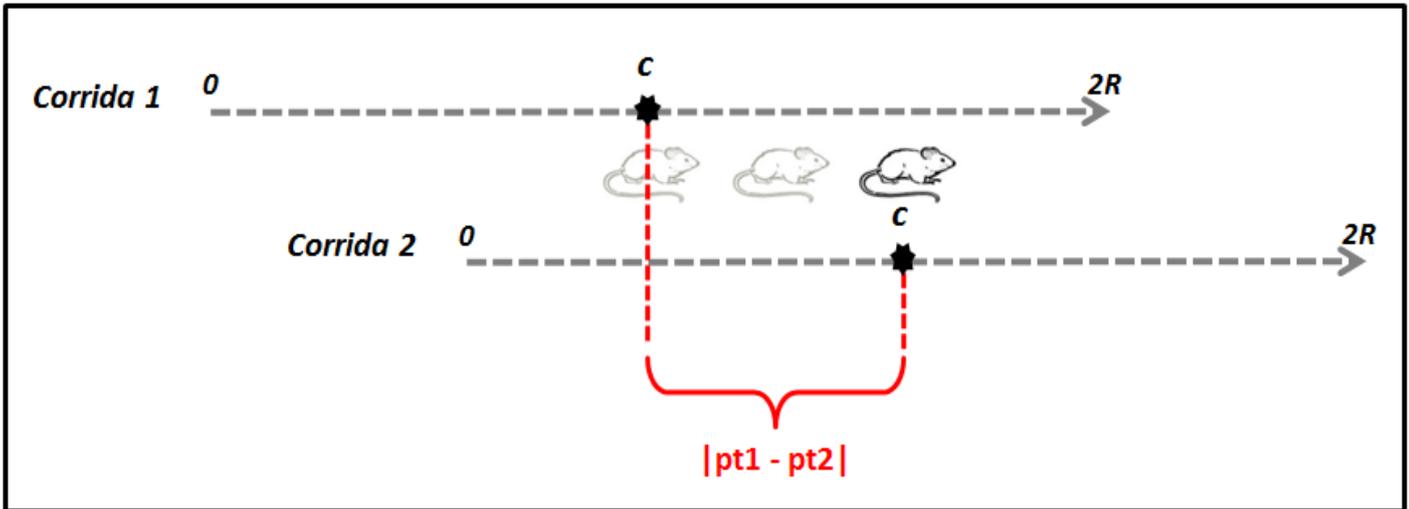


Figura 31. Selecionando Corridas entre Intervalos de Tempo. A distância temporal entre as corridas é calculada pelo momento em que o animal cruza o centro das duas corridas. $\Delta t = (t_2 - t_1)$ em (11) é o delimitador do intervalo, é constante e igual a 1 segundo, já $|pt_1 - pt_2|$ da figura são as variações de tempo entre as corridas. Por exemplo, quando $t_1 = 3$ e $t_2 = 4$, todas as corridas com distância temporal entre 3 e 4 segundos, ou seja, $3 \leq |pt_1 - pt_2| < 4$, são analisadas.

Os resultados mostram que o perfil de combinações dos modos é diferente do esperado aleatoriamente para alguns intervalos de tempo (Figura 32).

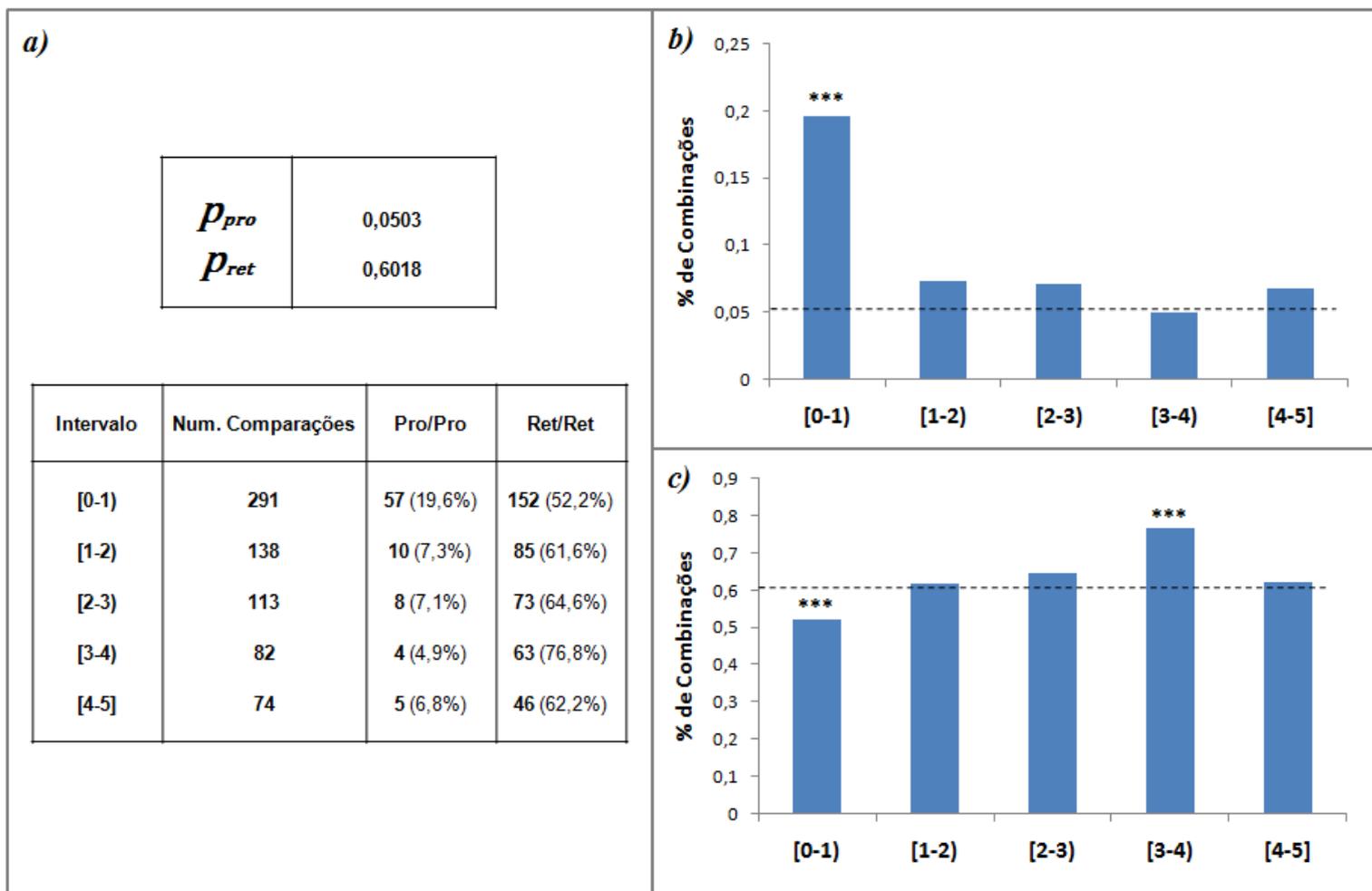


Figura 32. Combinação Temporal de Corridas. Esse gráfico mostra o número de corridas que ocorreram no mesmo modo de 0 até 5 segundos, com intervalos fixos de 1 segundo. **a)** A tabela acima informa a probabilidade de uma combinação aleatória entre os modos, dada por (12); a tabela abaixo mostra o número de corridas comparadas para cada intervalo (coluna 2), o número de combinações nos modos Prospectivo (coluna 3) e Retrospectivo (coluna 4); **b)** Percentual de combinações no modo Prospectivo. Corridas que ocorrem em um intervalo de [0-1) segundo apresentam percentual de combinação acima do esperado aleatoriamente ($p < 0,01$ para o teste de distribuição binomial); **c)** Percentual de combinações no modo Retrospectivo. As corridas que ocorrem no intervalo de [0-1) segundo apresentam percentual de combinação inferior à distribuição aleatória ($p < 0,01$), e corridas que ocorrem entre

[3-4) segundos de distância temporal apresentam percentual de combinação superior à distribuição aleatória ($p < 0,01$). As linhas tracejadas representam os níveis de combinação esperados aleatoriamente.

5. Discussão

O primeiro trabalho a propor que as células de lugar são capazes de prever posições futuras foi realizado há mais de 25 anos (Muller e Kubie, 1989). Neste os ratos moviam-se livremente dentro de um cilindro com raio de 38cm, e foi demonstrado que células de lugar possuem um padrão de disparos preferencialmente no que chamamos atualmente de modo Prospectivo. Diversos outros trabalhos indicaram e demonstraram a existência de modos de atividade em células de lugar (Griffin e Hallock, 2013), porém apenas o primeiro deles foi realizado em um ambiente bidimensional (Muller e Kubie, 1989). No presente trabalho reafirmamos a existência dos modos Prospectivo e Retrospectivo em células de lugar hipocâmpais (Figura 17, 19 e 20).

Nosso trabalho apresentou uma proporção predominante de corridas Retrospectivas, o que pode estar relacionado ao tipo de experimento realizado, visto que os modos podem ser decorrentes de processos cognitivos distintos (Gupta *et al.*, 2012; Sanders *et al.*, 2015). Ao contrário dos experimentos nos quais o animal precisa realizar tarefas para ganhar recompensas alimentares, nossos dados referem-se a livre movimentação do animal forrageando pelo ambiente (Mizuseki, 2013). Os trabalhos na literatura oscilam quanto às proporções e preferências de ocorrências dos modos, alguns encontraram mais atividade Prospectiva (Muller e Kubie, 1989; Battaglia, Sutherland e Mcnaughton, 2004; Lee *et al.*, 2006; Brown, Hasselmo e Stern, 2014), outros Retrospectiva (Ferbinteanu, Shirvalkar e Shapiro, 2011; De Almeida *et al.*, 2012; Catanese *et al.*, 2014), e ainda, outros trabalhos mostram que a atividade Prospectiva ocorre preferencialmente quando o animal está saindo de um ponto de recompensa, enquanto a atividade Retrospectiva ocorre quando o animal está chegando em um ponto de recompensa (Gupta *et al.*, 2012; Bieri, Bobbitt e Colgin, 2014).

A aparente "ausência de tarefa" dos ratos nos dados que utilizamos é um ponto de extrema relevância para a avaliação dos modos. O treinamento condicionado pode gerar um condicionamento dos modos também, alterando o padrão neural observável dos animais. Dentro dessa perspectiva, nossos resultados, no que diz respeito às proporções de corridas Prospectivas e Retrospectivas, são relevantes para literatura por ser o único trabalho sob esse desenho experimental. É importante ressaltar que, apesar de (Muller e Kubie, 1989) também terem utilizado dados de animais com livre movimentação em campo aberto, nossos dados são de experimentos em ambientes sete vezes maiores e a análise dos modos foi feita com maior controle de variáveis. Em ambientes pequenos, dificilmente seria possível selecionar corridas válidas como utilizamos nesse trabalho.

Considerando que os modos são caracterizados por disparos antes ou após a posição esperada pelo perfil de atividade padrão de uma célula de lugar, a própria existência dos modos dificulta sua análise, pois os centros dos campos receptivos são calculados a partir da atividade somada por todas as passagens dos ratos na região. A diferença proporcional entre o número de corridas Prospectivas e Retrospectivas faz com que o perfil do campo receptivo se altere, possivelmente deslocando o centro calculado do seu centro verdadeiro. Ainda assim, a análise dos campos receptivos a partir de seus centróides é melhor realizada em experimentos em ambientes bidimensionais, pois esta é a real dimensão da correlação espacial das células de lugar estudadas (Knierim e Mcnaughton, 2001) (apesar de evidências de células de lugar com campo receptivo tridimensional em morcegos (Yartsev e Ulanovsky, 2013)).

Outra dificuldade no estudo dos modos é a irregularidade geométrica dos campos receptivos. Mesmo tendo utilizado um ponto de corte por esfericidade (o qual reduziu o número de campos analisados em aproximadamente 30% - dados não

presentes no texto), ainda assim os padrões de atividade dos campos receptivos são muito diferentes do idealizado pelos modelos, nos quais é possível identificar o ponto exato de maior atividade. No caso de células de grade esse efeito é drasticamente reduzido, pois seus campos receptivos apresentam um alto índice de esfericidade com a região central sendo a de maior atividade. O trabalho que avaliou os modos em células de grade (De Almeida *et al.*, 2012) utilizou dados de experimentos semelhantes aos do presente trabalho e, como resultado, os autores também obtiveram um maior índice de corridas Retrospectivas, bem como um deslocamento do número de potenciais de ação em favor do modo Retrospectivo (Figura 18).

Realizamos também a distinção da ocorrência dos modos nas regiões CA3 e CA1 (Figura 20). As corridas para neurônios em CA1 apresentaram maior percentual do modo Prospectivo e Indefinidas em relação aos neurônios em CA3, enquanto há uma prevalência de corridas Retrospectivas em CA3 comparado a CA1. De qualquer modo, o número de corridas Retrospectivas continua sendo muito superior às corridas Prospectivas nas duas regiões, e as variações nas proporções dos modos podem estar relacionadas tanto às funções cognitivas do hipocampo quanto por uma simples diferença no perfil de células de lugar avaliadas.

Em nossos resultados notamos uma tendência de desaceleração dos ratos da metade inicial das corridas para a metade final (Figura 15). Quando analisada a rapidez durante os modos, mostramos que apenas para o modo Retrospectivo há uma desaceleração significativa (Figura 28), ou seja, os animais tendem a desacelerar quando estão no modo Retrospectivo. Resultado semelhante foi encontrado para células de grade (De Almeida *et al.*, 2012).

A análise dos PA das corridas indica um leve deslocamento da atividade média das corridas na direção Retrospectiva (Figura 25), visto que as distâncias dos picos de

atividade para o centro são maiores nas corridas nesse modo. Esse resultado pode ser resultado de um erro no cálculo do centro dos campos receptivos como discutido acima, mas também pode significar uma diferenciação temporal dos modos, na qual a capacidade de projeção da trajetória, ou evocação de memória espacial (no modo Prospectivo) e de armazenamento de memória episódica (no modo Retrospectivo) possuem características de rede distintas (Leutgeb *et al.*, 2005; Eschenko e Mizumori, 2007; Sanders *et al.*, 2015) e as posições relativas ao centro do campo receptivo sejam diferentes.

Outro resultado obtido da análise dos PA é uma proporção maior de corridas Prospectivas com mais de um pico de atividade (Figura 25). Na maioria das vezes, o segundo pico ocorre na porção Retrospectiva da corrida. Isso pode indicar uma mudança de modo de atividade durante a corrida. Visto que as corridas Prospectivas representam apenas 13% do total de corridas analisadas, é plausível pensar que esse modo seja acionado em situações específicas relacionadas à tomada de decisões envolvendo escolha de trajetórias (Bett *et al.*, 2012; Catanese *et al.*, 2014).

Nossas análises avaliam apenas trajetórias nas quais os ratos movimentam-se com o intuito de vasculhar o ambiente rapidamente e transitam entre pontos distantes (o tamanho de corrida médio é de 30cm). Esse fator pode interferir na ocorrência dos modos tal que, quando os ratos deslocam-se por distâncias maiores, há uma tendência de utilizar o modo Prospectivo a fim de vasculhar a direção que o animal está indo (Ainge *et al.*, 2012). De acordo com essa proposta, nossos dados revelam que o modo Prospectivo ocorre em corridas mais longas, as quais que estão diretamente ligadas a campos receptivos mais longos (Figura 21).

A avaliação feita sobre o percentual de vezes que os ratos mudam de trajetória antes e após as corridas mostra que há o número relativo de vezes que os animais

mudam de direção imediatamente antes e durante as corridas é maior para o modo Prospectivo (Figura 30a). Uma possível explicação para esse resultado é uma influência da velocidade angular sobre a ocorrência do modo Prospectivo (Cowen e Nitz, 2014), porém é possível propor que a mudança na direção da trajetória e a concomitante ativação do modo Prospectivo são decorrentes de um planejamento de rota. O fato de não haver diferença no percentual de mudança de direção entre a corrida e a trajetória imediatamente após pode indicar uma eficiência temporal do modo Prospectivo, visto que a alteração de direção se dá durante a própria corrida.

Outra análise apresentada nesse trabalho diz respeito aos modos serem uma característica de rede. Já foi demonstrado que há uma correlação temporal na ocorrência dos modos para células de grade (De Almeida *et al.*, 2012) e para células de lugar em CA1 (Bieri, Bobbitt e Colgin, 2014) quando as comparações entre os pares de neurônios são feitas em intervalos inferiores a 1 segundo. Ao contrário dos trabalhos citados, os quais utilizaram os dois modos de atividade para a análise de combinação temporal, em nosso trabalho avaliamos individualmente as propriedades combinatórias dos modos Prospectivo e Retrospectivo. Nossos dados mostram que pares de corridas com menos de 1 segundo de intervalo tendem a combinar no modo Prospectivo (Figura 32b), o que indica que a ativação desse modo é realizada a nível de rede, e em momentos específicos. Já as combinações entre modos Retrospectivas apresentou uma correlação negativa para corridas com intervalo menor que 1 segundo e correlação positiva para corridas que ocorrem entre 3 e 4 segundos de distância intertemporal (Figura 32c). O resultado da análise para o modo Retrospectivo é inesperado e de difícil interpretação. A probabilidade aleatória de combinações é calculada considerando o percentual de corridas de todas as sessões, sem considerar nenhuma informação temporal, e isto aparentemente não está correto para o modo Retrospectivo.

Enquanto o modo Prospectivo tende a ocorrer preferencialmente em curtas frações temporais, o modo Retrospectivo aparenta ocorrer dentro de oscilações temporais e não por conta de um evento específico.

Em conjunto, nossos resultados estão de acordo com a teoria de que as células de lugar apresentam dois modos de atividade, fazendo parte das redes responsáveis por processamento de memórias episódicas e espaciais, planejamento de rota, tomada de decisões, e projeção mental.

6. Conclusão

Nesse trabalho estudamos a atividade de células de lugar no hipocampo utilizando dados de eletrofisiologia de ratos forrageando em um ambiente de campo aberto de tamanho amplo e conseguimos reafirmar a existência de modos de atividade distintos para esses neurônios. Nossos resultados sugerem que esse grupo de neurônios apresenta ao menos duas especializações funcionais, as quais se apresentam de maneira diferente.

Nas condições experimentais avaliadas, a presença do modo Prospectivo foi muito inferior em número e caracteristicamente divergente do modo Retrospectivo. Mesmo com um número reduzido de variáveis disponíveis para análise (posição do animal e tempo dos potenciais de ação) conseguimos demonstrar a distribuição dos modos de maneira até então não apresentada na literatura.

Infelizmente não foi possível fazer muitas inferências sobre a relação cognitiva dos modos, pois muitas variáveis não foram controladas, como por exemplo o tempo e a disposição espacial das recompensas alimentares fornecidas durante os experimentos. De qualquer modo, construímos uma série metodológica que deverá ser utilizada para novos grupos de dados em experimentos mais controlados a fim de compreender melhor a funcionalidade desses neurônios e de suas redes.

Como propostas para trabalhos futuros pretendemos utilizar novas séries de dados a fim de: realizar as análises segregando os neurônios da região CA3 e CA1, visto que o número de corridas em CA3 foi baixo nos presentes dados; realizar as análises para células de grade do córtex entorrinal para avaliar a ocorrência dos modos nessa

região; e realizar a análise de medidas simultâneas entre as regiões CA3 e CA1, e córtex entorrinal e hipocampo a fim estudar como os modos interagem entre as regiões.

7. Referências Bibliográficas

AINGE, J. A. et al. Hippocampal place cells encode intended destination, and not a discriminative stimulus, in a conditional T-maze task. **Hippocampus**, v. 22, n. 3, p. 534-43, Mar 2012. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21365712> >.

ALGER, B. E.; TEYLER, T. J. Long-term and short-term plasticity in the CA1, CA3, and dentate regions of the rat hippocampal slice. **Brain Res**, v. 110, n. 3, p. 463-80, Jul 1976. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/947467> >.

ATHERTON, L. A.; DUPRET, D.; MELLOR, J. R. Memory trace replay: the shaping of memory consolidation by neuromodulation. **Trends Neurosci**, v. 38, n. 9, p. 560-70, Sep 2015. ISSN 1878-108X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26275935> >.

BARENSE, M. D. et al. Medial temporal lobe activity during complex discrimination of faces, objects, and scenes: Effects of viewpoint. **Hippocampus**, v. 20, n. 3, p. 389-401, Mar 2010. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19499575> >.

BATTAGLIA, F. P.; SUTHERLAND, G. R.; MCNAUGHTON, B. L. Local sensory cues and place cell directionality: additional evidence of prospective coding in the hippocampus. **J Neurosci**, v. 24, n. 19, p. 4541-50, May 2004. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15140925> >.

BETT, D. et al. The neural substrates of deliberative decision making: contrasting effects of hippocampus lesions on performance and vicarious trial-and-error behavior in a spatial memory task and a visual discrimination task. **Front Behav Neurosci**, v. 6, p. 70, 2012. ISSN 1662-5153. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23115549> >.

BIERI, K. W.; BOBBITT, K. N.; COLGIN, L. L. Slow and fast γ rhythms coordinate different spatial coding modes in hippocampal place cells. **Neuron**, v. 82, n. 3, p. 670-81, May 2014. ISSN 1097-4199. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24746420> >.

BLISS, T. V.; LOMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. **J Physiol**, v. 232, n. 2, p. 331-56, Jul 1973. ISSN 0022-3751. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4727084> >.

BONNEVIE, T. et al. Grid cells require excitatory drive from the hippocampus. **Nat Neurosci**, v. 16, n. 3, p. 309-17, Mar 2013. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23334581> >.

BROWN, T. I.; HASSELMO, M. E.; STERN, C. E. A high-resolution study of hippocampal and medial temporal lobe correlates of spatial context and prospective overlapping route memory. **Hippocampus**, v. 24, n. 7, p. 819-39, Jul 2014. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24659134> >.

BRUN, V. H. et al. Place cells and place recognition maintained by direct entorhinal-hippocampal circuitry. **Science**, v. 296, n. 5576, p. 2243-6, Jun 2002. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12077421> >.

BURGESS, N.; MAGUIRE, E. A.; O'KEEFE, J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. **Neuron**, v. 35, n. 4, p. 625-41, Aug 2002. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12194864> >.

BUSH, D.; BARRY, C.; BURGESS, N. What do grid cells contribute to place cell firing? **Trends Neurosci**, v. 37, n. 3, p. 136-45, Mar 2014. ISSN 1878-108X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24485517> >.

BUZSÁKI, G. Theta oscillations in the hippocampus. **Neuron**, v. 33, n. 3, p. 325-40, Jan 2002. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11832222> >.

BUZSÁKI, G.; MOSER, E. I. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. **Nat Neurosci**, v. 16, n. 2, p. 130-8, Feb 2013. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23354386> >.

CACUCCI, F. et al. Theta-modulated place-by-direction cells in the hippocampal formation in the rat. **J Neurosci**, v. 24, n. 38, p. 8265-77, Sep 2004. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15385610> >.

CATANESE, J. et al. Retrospectively and prospectively modulated hippocampal place responses are differentially distributed along a common path in a continuous T-maze. **J Neurosci**, v. 34, n. 39, p. 13163-9, Sep 2014. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25253861> >.

CEI, A. et al. Reversed theta sequences of hippocampal cell assemblies during backward travel. **Nat Neurosci**, v. 17, n. 5, p. 719-24, May 2014. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24667574> >.

CHEN, G. et al. How vision and movement combine in the hippocampal place code. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 1, p. 378-83, Jan 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23256159> >.

CHERSI, F.; BURGESS, N. The Cognitive Architecture of Spatial Navigation: Hippocampal and Striatal Contributions. **Neuron**, v. 88, n. 1, p. 64-77, Oct 2015. ISSN 1097-4199. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26447573> >.

COWEN, S. L.; NITZ, D. A. Repeating firing fields of CA1 neurons shift forward in response to increasing angular velocity. **J Neurosci**, v. 34, n. 1, p. 232-41, Jan 2014. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24381284> >.

DE ALMEIDA, L. et al. Alternating predictive and short-term memory modes of entorhinal grid cells. **Hippocampus**, v. 22, n. 8, p. 1647-51, Aug 2012. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22549964> >.

DUPRET, D. et al. The reorganization and reactivation of hippocampal maps predict spatial memory performance. **Nat Neurosci**, v. 13, n. 8, p. 995-1002, Aug 2010. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20639874> >.

EICHENBAUM, H.; COHEN, N. J. Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function? **Neuron**, v. 83, n. 4, p. 764-70, Aug 2014. ISSN 1097-4199. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25144874> >.

EKSTROM, A. D. et al. Cellular networks underlying human spatial navigation. **Nature**, v. 425, n. 6954, p. 184-8, Sep 2003. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12968182> >.

ESCHENKO, O.; MIZUMORI, S. J. Memory influences on hippocampal and striatal neural codes: effects of a shift between task rules. **Neurobiol Learn Mem**, v. 87, n. 4, p. 495-509, May 2007. ISSN 1074-7427. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17240173> >.

FENTON, A. A. et al. Unmasking the CA1 ensemble place code by exposures to small and large environments: more place cells and multiple, irregularly arranged, and expanded place fields in the larger space. **J Neurosci**, v. 28, n. 44, p. 11250-62, Oct 2008. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18971467> >.

FERBINTEANU, J.; SHAPIRO, M. L. Prospective and retrospective memory coding in the hippocampus. **Neuron**, v. 40, n. 6, p. 1227-39, Dec 2003. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14687555> >.

FERBINTEANU, J.; SHIRVALKAR, P.; SHAPIRO, M. L. Memory modulates journey-dependent coding in the rat hippocampus. **J Neurosci**, v. 31, n. 25, p. 9135-46, Jun 2011. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21697365> >.

FILIMON, F. Are All Spatial Reference Frames Egocentric? Reinterpreting Evidence for Allocentric, Object-Centered, or World-Centered Reference Frames. **Front Hum Neurosci**, v. 9, p. 648, 2015. ISSN 1662-5161. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26696861> >.

FOSTER, D. J.; WILSON, M. A. Hippocampal theta sequences. **Hippocampus**, v. 17, n. 11, p. 1093-9, 2007. ISSN 1050-9631. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17663452> >.

FYHN, M. et al. Hippocampal remapping and grid realignment in entorhinal cortex. **Nature**, v. 446, n. 7132, p. 190-4, Mar 2007. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17322902> >.

FYHN, M. Grid cells in mice. **Hippocampus**, v. 18, n. 12, p. 1230-8, 2008. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18683845> >.

FYHN, M. Spatial representation in the entorhinal cortex. **Science**, v. 305, n. 5688, p. 1258-64, Aug 2004. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15333832> >.

GRIFFIN, A. L.; HALLOCK, H. L. Hippocampal signatures of episodic memory: evidence from single-unit recording studies. **Front Behav Neurosci**, v. 7, p. 54, 2013. ISSN 1662-5153. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23734111> >.

GUPTA, A. S. et al. Segmentation of spatial experience by hippocampal θ sequences. **Nat Neurosci**, v. 15, n. 7, p. 1032-9, Jul 2012. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22706269> >.

HAFTING, T. et al. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. **Nature**, v. 436, n. 7052, p. 801-6, Aug 2005. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15965463> >.

HARALICK, R. M.; SHAPIRO, L. G. **Computer and Robot Vision**. Addison Wesley, 1992. 28-48.

HEBB, D. O. **The Organization of Behavior. A neuropsychological theory**. pp. xix. 335. John Wiley & Sons: New York; Chapman & Hall: London, 1949.

JOHNSON, A.; REDISH, A. D. Neural ensembles in CA3 transiently encode paths forward of the animal at a decision point. **J Neurosci**, v. 27, n. 45, p. 12176-89, Nov 2007. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17989284> >.

JOHNSON, N. L.; KOTZ, S.; W., K. A. **Univariate Discrete Distributions**. NJ:Wiley-Interscience, 1993.

KANDEL, E. R. et al. **Principles of neural science**. 5th ed. New York ; London: McGraw-Hill, Health Professions Division, 2013.

KJELSTRUP, K. B. et al. Finite scale of spatial representation in the hippocampus. **Science**, v. 321, n. 5885, p. 140-3, Jul 2008. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18599792> >.

KNIERIM, J. J.; MCNAUGHTON, B. L. Hippocampal place-cell firing during movement in three-dimensional space. **J Neurophysiol**, v. 85, n. 1, p. 105-16, Jan 2001. ISSN 0022-3077. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11152711> >.

KROPFF, E. et al. Speed cells in the medial entorhinal cortex. **Nature**, v. 523, n. 7561, p. 419-24, Jul 2015. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26176924> >.

LEE, A. K.; WILSON, M. A. Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. **Neuron**, v. 36, n. 6, p. 1183-94, Dec 2002. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12495631> >.

LEE, I. et al. Gradual translocation of spatial correlates of neuronal firing in the hippocampus toward prospective reward locations. **Neuron**, v. 51, n. 5, p. 639-50, Sep 2006. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16950161> >.

LEUTGEB, S. et al. Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensembles. **Science**, v. 309, n. 5734, p. 619-23, Jul 2005. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16040709> >.

LØMO, T. The discovery of long-term potentiation. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 358, n. 1432, p. 617-20, Apr 2003. ISSN 0962-8436. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740104> >.

MADL, T. et al. Computational cognitive models of spatial memory in navigation space: a review. **Neural Netw**, v. 65, p. 18-43, May 2015. ISSN 1879-2782. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25659941> >.

MAGUIRE, E. A. et al. Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 8, p. 4398-403, Apr 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10716738> >.

MARKUS, E. J. et al. Interactions between location and task affect the spatial and directional firing of hippocampal neurons. **J Neurosci**, v. 15, n. 11, p. 7079-94, Nov 1995. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7472463> >.

MCGAUGH, J. L. Memory--a century of consolidation. **Science**, v. 287, n. 5451, p. 248-51, Jan 2000. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10634773> >.

MCNAUGHTON, B. L. et al. Path integration and the neural basis of the 'cognitive map'. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 8, p. 663-78, Aug 2006. ISSN 1471-003X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16858394> >.

MILNER, B.; SQUIRE, L. R.; KANDEL, E. R. Cognitive neuroscience and the study of memory. **Neuron**, v. 20, n. 3, p. 445-68, Mar 1998. ISSN 0896-6273. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9539121> >.

MIZUSEKI, K., SIROTA, A., PASTALKOVA, E., DIBA, K., BUZSÁKI, G. **Multiple single unit recordings from different rat hippocampal and entorhinal regions while the animals were performing multiple behavioral tasks. CRCNS.org. 2013.**

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **J Neurosci Methods**, v. 11, n. 1, p. 47-60, May 1984. ISSN 0165-0270. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6471907> >.

MORRIS, R. G. M. **Spatial Localization Does Not Require the Presence of Local Cues** Learning and Motivation: 239-260 p. 1981.

MOSER, E. I.; MOSER, M. B. A metric for space. **Hippocampus**, v. 18, n. 12, p. 1142-56, 2008. ISSN 1098-1063. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19021254> >.

MOSER, E. I. et al. Grid cells and cortical representation. **Nat Rev Neurosci**, v. 15, n. 7, p. 466-81, Jul 2014. ISSN 1471-0048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24917300> >.

MULLER, R. U.; KUBIE, J. L. The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. **J Neurosci**, v. 7, n. 7, p. 1951-68, Jul 1987. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3612226> >.

_____. The firing of hippocampal place cells predicts the future position of freely moving rats. **J Neurosci**, v. 9, n. 12, p. 4101-10, Dec 1989. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2592993> >.

MULLER, R. U.; RANCK, J. B.; TAUBE, J. S. Head direction cells: properties and functional significance. **Curr Opin Neurobiol**, v. 6, n. 2, p. 196-206, Apr 1996. ISSN 0959-4388. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8725961> >.

O'KEEFE, J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. **Exp Neurol**, v. 51, n. 1, p. 78-109, Apr 1976. ISSN 0014-4886. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1261644> >.

O'KEEFE, J.; CONWAY, D. H. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. **Exp Brain Res**, v. 31, n. 4, p. 573-90, Apr 1978. ISSN 0014-4819. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/658182> >.

O'KEEFE, J.; DOSTROVSKY, J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. **Brain Res**, v. 34, n. 1, p. 171-5, Nov 1971. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5124915> >.

O'KEEFE, J.; NADEL, L. **The hippocampus as a cognitive map**. Oxford: Clarendon Press 1978.

O'KEEFE, J.; RECCE, M. L. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. **Hippocampus**, v. 3, n. 3, p. 317-30, Jul 1993. ISSN 1050-9631. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8353611> >.

POUCET, B. et al. Is there a pilot in the brain? Contribution of the self-positioning system to spatial navigation. **Front Behav Neurosci**, v. 9, p. 292, 2015. ISSN 1662-5153. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26578920> >.

RAVASSARD, P. et al. Multisensory control of hippocampal spatiotemporal selectivity. **Science**, v. 340, n. 6138, p. 1342-6, Jun 2013. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23641063> >.

RODRÍGUEZ, F. et al. Spatial memory and hippocampal pallium through vertebrate evolution: insights from reptiles and teleost fish. **Brain Res Bull**, v. 57, n. 3-4, p. 499-503, 2002 Feb-Mar 1 2002. ISSN 0361-9230. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11923018> >.

ROLLS, E. T.; O'MARA, S. M. View-responsive neurons in the primate hippocampal complex. **Hippocampus**, v. 5, n. 5, p. 409-24, 1995. ISSN 1050-9631. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8773254> >.

SANDERS, H. et al. Grid Cells and Place Cells: An Integrated View of their Navigational and Memory Function. **Trends Neurosci**, v. 38, n. 12, p. 763-75, Dec 2015. ISSN 1878-108X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26616686> >.

SARGOLINI, F. et al. Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. **Science**, v. 312, n. 5774, p. 758-62, May 2006. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16675704> >.

SCHWARTZKROIN, P. A.; WESTER, K. Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice. **Brain Res**, v. 89, n. 1, p. 107-19, May 1975. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/167909> >.

SOLSTAD, T. et al. Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. **Science**, v. 322, n. 5909, p. 1865-8, Dec 2008. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19095945> >.

SQUIRE, L. R.; STARK, C. E.; CLARK, R. E. The medial temporal lobe. **Annu Rev Neurosci**, v. 27, p. 279-306, 2004. ISSN 0147-006X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15217334> >.

STRANGE, B. A. et al. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. **Nat Rev Neurosci**, v. 15, n. 10, p. 655-69, Oct 2014. ISSN 1471-0048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25234264> >.

TEYLER, T. J.; DISCENNA, P. Long-term potentiation. **Annu Rev Neurosci**, v. 10, p. 131-61, 1987. ISSN 0147-006X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3032063> >.

THOMPSON, L. T.; BEST, P. J. Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. **Brain Res**, v. 509, n. 2, p. 299-308, Feb 1990. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2322825> >.

TOLMAN, E. C. Cognitive maps in rats and men. **Psychol Rev**, v. 55, n. 4, p. 189-208, Jul 1948. ISSN 0033-295X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18870876> >.

TSAO, A.; MOSER, M. B.; MOSER, E. I. Traces of experience in the lateral entorhinal cortex. **Curr Biol**, v. 23, n. 5, p. 399-405, Mar 2013. ISSN 1879-0445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23434282> >.

WIKENHEISER, A. M.; REDISH, A. D. Hippocampal theta sequences reflect current goals. **Nat Neurosci**, v. 18, n. 2, p. 289-94, Feb 2015. ISSN 1546-1726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25559082> >.

WILSON, M. A.; MCNAUGHTON, B. L. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. **Science**, v. 261, n. 5124, p. 1055-8, Aug 1993. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8351520> >.

WITTER, M. P. **Connectivity of the Hippocampus**. Hippocampal Microcircuits 2010.

WITTER, M. P.; MOSER, E. I. Spatial representation and the architecture of the entorhinal cortex. **Trends Neurosci**, v. 29, n. 12, p. 671-8, Dec 2006. ISSN 0166-2236. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17069897> >.

YARTSEV, M. M.; ULANOVSKY, N. Representation of three-dimensional space in the hippocampus of flying bats. **Science**, v. 340, n. 6130, p. 367-72, Apr 2013. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23599496> >.

YARTSEV, M. M.; WITTER, M. P.; ULANOVSKY, N. Grid cells without theta oscillations in the entorhinal cortex of bats. **Nature**, v. 479, n. 7371, p. 103-7, Nov 2011. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051680> >.