



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DANTE AMSTALDEN VON ZUBEN

**ANÁLISE DA FORMA DE ONDA *THETA* HIPOCAMPAL DURANTE CORRIDAS
EM ESTEIRA COM VELOCIDADE CONTROLADA**

NATAL
2025

DANTE AMSTALDEN VON ZUBEN

**ANÁLISE DA FORMA DE ONDA *THETA* HIPOCAMPAL DURANTE CORRIDAS
EM ESTEIRA COM VELOCIDADE CONTROLADA**

Trabalho de Conclusão de Curso na modalidade de artigo apresentado ao curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biologia.

Orientador: Professor. Dr. HINDIAEL
AERAF BELCHIOR

NATAL
2025

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - Centro de Biociências -
CB

Zuben, Dante Amstalden Von.

Análise da forma de onda theta hipocampal durante corridas em esteira com velocidade controlada / Dante Amstalden Von Zuben. - 2025.

29 f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Curso em Ciências Biológicas. Natal, RN, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Hindiael Aeraf Belchior.

1. Hipocampo - TCC. 2. Ritmo theta - TCC. 3. Onda cerebral - TCC. 4. Corrida - TCC. I. Belchior, Hindiael Aeraf. II. Título.

RN/UF/BSCB

CDU 612.8:004

Elaborado por KATIA REJANE DA SILVA - CRB-15/351



Esta obra está licenciada com uma licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional. Permite que outros remixem, adaptem e desenvolvam seu trabalho de forma não comercial, desde que creditem você e licenciem suas novas criações sob os mesmos termos. Link dessa licença: creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/legalcode

Dante Amstalden von Zuben

ANÁLISE DA FORMA DE ONDA *THETA* HIPOCAMPAL DURANTE CORRIDAS EM
ESTEIRA COM VELOCIDADE CONTROLADA

Trabalho de Conclusão de Curso na
modalidade de Artigo apresentado ao
curso de graduação em Ciências
Biológicas, da Universidade Federal do
Rio Grande do Norte, como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel

Aprovada em: 04/12/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hindiael Aeraf Belchior

Orientador

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE - UFRN

Prof. Dr. Bruno Lobão Soares

Membro interno

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE - UFRN

Dr. Alan Michel Bezerra Fortunato

Membro externo

INSTITUTO SANTOS DUMONT

ANÁLISE DA FORMA DE ONDA *THETA* HIPOCAMPAL DURANTE CORRIDAS EM ESTEIRA COM VELOCIDADE CONTROLADA

HIPPOCAMPAL *THETA* WAVEFORM ANALYSIS DURING CONTROLLED TREADMILL RUNNING

Dante Amstalden von Zuben

RESUMO

As oscilações *theta* (6–12 Hz) desempenham um papel fundamental na coordenação da atividade neural no circuito trissináptico hipocampal. Durante a navegação espacial, essas oscilações se correlacionam fortemente com a velocidade de locomoção de roedores, destacando seu potencial envolvimento na integração sensório-motora. No entanto, pesquisas recentes apresentaram visões conflitantes sobre a influência da magnitude da aceleração e da velocidade instantânea de corrida sobre o ritmo *theta* hipocampal. Além disso, estudos com roedores em livre movimento mostraram que a forma de onda do ciclo *theta* se torna mais assimétrica sob maiores velocidades de locomoção. No presente estudo, busquei investigar como a locomoção em velocidades constantes e aceleradas em esteira afeta a forma de onda das oscilações *theta* hipocampais. Para isso, empreguei uma análise ciclo a ciclo, que independe de transformadas baseadas em senos e cossenos. Os resultados mostram que aumentos da velocidade de locomoção provocam a diminuição do período e o aumento da amplitude, assim como um aumento da assimetria da forma de onda do ciclo *theta* hipocampal. Estas mudanças na morfologia da onda sugerem que o hipocampo pode comprimir temporalmente as sequências de disparo neuronal tornando-as mais eficientes e garantindo a codificação precisa da trajetória espacial mesmo sob altas demandas locomotoras.

Palavras-chave: hipocampo; ritmo *theta*; onda cerebral; simetria de onda; corrida; exercício; ratos.

ABSTRACT

Theta oscillations (6–12 Hz) play a pivotal role in coordinating neural activity within the hippocampal trisynaptic circuit. During spatial navigation, these oscillations strongly correlate with locomotion speed in rodents, highlighting their potential involvement in sensorimotor integration. However, recent research has presented conflicting views regarding the influence of acceleration magnitude and instantaneous running speed on the hippocampal theta rhythm. Furthermore, studies with freely moving rodents have shown that the theta cycle waveform becomes more asymmetric at higher locomotion speeds. In the present study, I sought to investigate how locomotion at constant and accelerated speeds on a treadmill affects the waveform of hippocampal theta oscillations. To this end, I employed a cycle-by-cycle analysis that is independent of sine and cosine-based transforms. The results show that increases in locomotion speed lead to a decrease in the period and an increase in the amplitude, as well as an increase in the waveform asymmetry of the hippocampal theta cycle. These changes in the wave morphology suggest that the hippocampus can temporally compress firing sequences, thereby optimizing efficiency and ensuring accurate spatial trajectory encoding, even under conditions of high locomotor demand.

Keywords: hippocampus; theta rhythm; brain wave; wave symmetry; running; exercise; rats.

1 INTRODUÇÃO

As oscilações rítmicas dos potenciais eletrofisiológicos de grandes populações de neurônios, fornecem pistas cruciais para o entendimento da dinâmica cerebral (Buzsáki, 2012). Tais oscilações podem ser computadas através da variação do potencial elétrico de populações de neurônios próximos a um eletrodo implantado no encéfalo, os chamados potenciais de campo local, ou *local field potentials* (LFPs). No hipocampo, uma das oscilações de amplitude mais proeminente ocorre na frequência *theta*, que varia entre 6 e 12 Hz. Diversos estudos têm evidenciado que o ritmo *theta* é fortemente associado a tarefas de memória, localização e navegação espacial (Buzsáki, 2005; Tesche; Karhu, 2000; Reichelt *et al.*, 2021). Postula-se que tais oscilações são cruciais para a coordenação da atividade neuronal durante processos perceptivos, cognitivos e motores, sendo determinantes em tarefas relacionadas à atenção e percepção do ambiente, bem como para a fase do sono onde ocorre o movimento ocular rápido (REM). O ritmo *theta* então, se destaca por seu papel essencial para a coordenação da atividade hipocampal nos momentos de alto fluxo de informação (Buzsáki; Moser, 2013).

Nos roedores, a locomoção é um dos principais fatores moduladores do *theta* hipocampal na vigília (Bland; Oddie, 2001), embora a influência da velocidade e da aceleração ainda seja debatida (Kropff *et al.*, 2021; Kennedy *et al.*, 2022). Tipicamente, a informação contida nos LFPs é caracterizada pelos aspectos de fase, amplitude e frequência da onda, que são aferidos através do uso de técnicas no chamado domínio da frequência e requerem o acúmulo entre diversos ciclos de oscilação (Cole; Voytek, 2019). Tais métodos são capazes de fornecer informações fundamentais sobre ondas cerebrais, tanto em estados fisiológicos normais quanto em estados patológicos, onde podem ser detectadas alterações nas propriedades das oscilações cerebrais (Cunningham *et al.* 2006).

As técnicas predominantemente usadas no estudo destas oscilações são baseadas nas transformadas de Fourier e de Hilbert, que assumem sinais cerebrais como sendo compostos por uma soma de ondas sinusoidais estacionárias (Cole; Voytek, 2019). Contudo, alguns ritmos cerebrais não podem ser definidos como ondas sinusoidais, sendo caracterizadas por formas irregulares e assimétricas.

Particularmente, o ritmo *theta* hipocampal apresenta ondas em formato de “dente-de-serra” (*sawtooth*), um formato caracterizado pela assimetria na proporção das fases ascendente-descendente de forma que alguma das fases possui duração mais longa que a outra (Buzsáki *et al.*, 1985, Cole; Voytek, 2017). Portanto, apesar de representarem um conjunto ferramental imprescindível no estudo de ritmos cerebrais e de sua relação com estados comportamentais, essas análises ficam sujeitas a resultados artefactuais, como na detecção de acoplamento de frequências cruzadas (*cross-frequency coupling, CFC*) onde não há interações presentes entre as frequências (Cole *et al.*, 2017, Gerber *et al.*, 2016). Dessa forma, informações relativas a estados fisiológicos basais ou patológicos codificados nas oscilações não-sinusóides podem não ser estimados nas análises habituais (Bartz, 2019), gerando uma lacuna no entendimento a respeito dos processos eletrofisiológicos envolvidos em diversos estados comportamentais, psíquicos e patológicos. Assim, faz-se necessário a utilização de um método de quantificação das características da onda no domínio do tempo, a fim de contabilizar o padrão morfológico da oscilação *theta*.

Uma abordagem da análise eletrofisiológica no domínio do tempo permite a contabilização da duração das fases da oscilação presentes num determinado ciclo, de forma que haja a mensuração da duração de quatro segmentos distintos: a fase de pico, a fase de vale, a fase ascendente e a fase descendente. A caracterização precisa desses parâmetros permite o cálculo de padrões de simetria, como a simetria pico-vale e a simetria ascendente-descendente. Estas medidas de simetria são de alta relevância neurofisiológica, uma vez que refletem, de maneira sensível, diferentes estados psicocomportamentais como sono e vigília (Gerber *et al.*, 2016).

Um exemplo prático dessa problemática emerge na implementação de protocolos de exercício físico em modelos animais em laboratório, onde se registra o LFP do hipocampo de roedores (Li *et al.*, 2014). Primeiramente, é importante ressaltar que a maioria dos estudos estima a velocidade do animal a partir de deslocamentos voluntários em campo aberto, com alguns outros estudos utilizando rodas para corrida ou até mesmo carros com fundo aberto para forçar o deslocamento do roedor (Kropff, 2021). Apesar de amplamente utilizados, tais métodos sofrem limitações relacionadas ao viés de amostragem da velocidade

espontânea do animal. No caso do campo aberto e da roda de corrida, que representam as duas metodologias mais usuais, essa limitação é evidente, pois a locomoção depende da volição do animal, reduzindo a amostragem em velocidades elevadas. Além disso, tanto a duração como a velocidade e aceleração da locomoção não podem ser predeterminados. Dessa forma, o uso da esteira para forçar a locomoção do animal, controlar a intensidade e a duração dos períodos de exercício apresenta vantagens significativas sobre o controle das variáveis do movimento. E ainda reduz outras fontes de variabilidade de comportamento do animal, facilitando o estudo de rotinas de exercício crônico, assim como testes de fadiga e esforço (Li *et al.*, 2014).

A relação precisa entre a locomoção e a modulação do ritmo teta hipocampal permanece por ser elucidada (Bland; Oddie, 2001). Além disso, observa-se uma escassez de análises na literatura que investiguem o efeito da corrida de maneira anatomicamente abrangente, registrando simultaneamente a atividade eletrofisiológica de todas as sub-regiões hipocampais (CA1, CA3 e Giro Denteado) bilateralmente. Diante desse cenário, o presente estudo visou investigar o impacto de protocolos de corrida em esteira, com velocidades constantes e crescentes sobre a dinâmica da forma de onda do ritmo *theta*. Para contornar a possibilidade de que as características não-sinusoidais do ciclo *theta* hipocampal sejam negligenciadas, propus uma análise no domínio do tempo utilizando um método de análise ciclo-a-ciclo desenvolvido por Cole e Voytek (2019). Esta abordagem viabiliza a detecção de variações na forma da onda, proporcionando novos *insights* acerca da relação entre comportamento locomotor e o ciclo do ritmo *theta* hipocampal, bem como o efeito do treinamento de corrida no padrão do *theta*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dados analisados foram coletados previamente pelo Dr. Alan M. B. Furtunato, estando disponíveis no banco de dados do laboratório de fisiologia do exercício da UFRN. A metodologia utilizada no tratamento dos animais, o protocolo experimental e a coleta dos dados estão descritos a seguir.

2.1 Animais

Foram utilizados cinco ratos Wistar machos adultos (3 meses de idade; 350-450 g) fornecidos pelo Biotério Central do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Após a implantação dos eletrodos, os ratos foram alojados individualmente em caixas transparentes de *Plexiglass* (19 x 12 x 7 cm) e mantidos em um ciclo claro/escuro de 12h/12h (luzes acesas às 6h), com comida e água *ad libitum*. Os experimentos foram realizados entre 16h e 20h. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRN, licença nº 52/2016) e estavam em conformidade com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Edition* (National Research Council, 2011).

2.3 Eletrodos

Sinais eletrofisiológicos das áreas CA1, CA3 e DG do hipocampo dorsal foram registrados usando arranjos de 16 microeletrodos (Figura 1A painel superior). Esses arranjos foram construídos como dois feixes de dimensões 1 linha por 8 colunas, com uma separação de profundidade intereletrodo de 200 μm , sendo projetados para fixarem bilateralmente no hipocampo dorsal nas coordenadas estereotáxicas -3,6 mm AP e \pm 3,0 mm ML (Paxinos e Watson, 2009). Os métodos detalhados para fabricação e implantação desses arranjos de microeletrodos são fornecidos em Neves *et al.* (2022).

2.4 Protocolo Experimental

Utilizei uma esteira elétrica (AVS Projetos, 40 x 13,5 cm) equipada com uma grade metálica traseira capaz de aplicar choques elétricos leves (0,1 - 0,7 mA a 60

Hz, por até 1 segundo) para evitar que os animais saíssem da esteira durante a habituação e o treinamento (Figura 1A painel inferior). A operação da esteira foi controlada por um Arduino Uno, e sua saída foi registrada como entradas TTL (*transistor-transistor logic*).

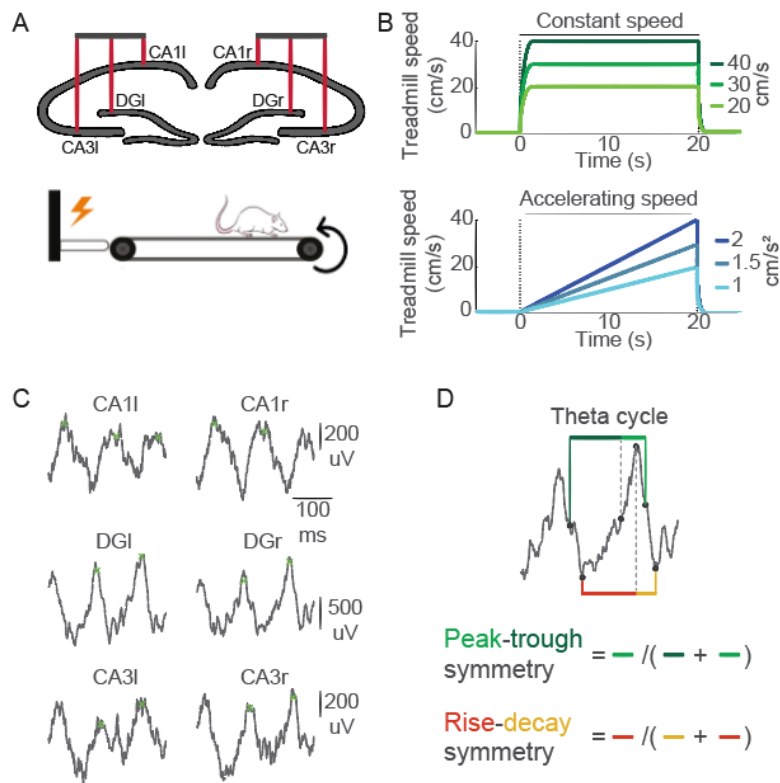


Figura 1: Registros eletrofisiológicos *in vivo* durante corrida em velocidades constantes e aceleradas em esteira. (A) Posicionamento estimado dos *arrays* de microeletrodos em DG, CA3 e CA1 (superior) e ilustração esquemática da esteira de corrida (inferior). (B) Protocolos de corrida na esteira em velocidades constantes (*constant speed*) no painel superior e velocidades aceleradas (*accelerating speed*) no painel inferior. Eixo Y (*Treadmill speed*) indica a velocidade instantânea da esteira ao longo do tempo, que está representado no eixo X (*Time*). (C) Fragmentos representativos dos LFPs obtidos a partir de cada uma das regiões estudadas, demonstrando a sua característica típica de forma de onda assimétrica. (D) Exemplificação do cálculo da simetria pico-vale (verde claro e escuro, respectivamente) e ascendente-descendente (vermelho e amarelo,

respectivamente). A simetria pico-vale é calculada como a fração do período entre o ponto médio da ascendente e o ponto médio subsequente da fase descendente (ou seja, o pico). Da mesma forma, a simetria ascendente-descendente é calculada como a fração do período em que o ciclo está na fase ascendente. Uma forma de onda perfeitamente simétrica é igual a 0,5.

Os animais foram inicialmente habituados ao manuseio pelo pesquisador e ao aparelho da esteira por 3 dias. No primeiro dia, os ratos foram colocados na esteira por 30 minutos com a função de choque elétrico e a esteira desativada. No segundo dia, a função de choque elétrico foi ativada e a esteira permaneceu desligada. No terceiro dia, os ratos caminharam na esteira em baixa velocidade (< 10 cm/s) por 5 minutos após 30 minutos de habituação. O experimento foi projetado para que os ratos corressem na esteira com acelerações controladas ($A1 = 1$ cm/s², $A2 = 1,5$ cm/s², $A3 = 2$ cm/s²) ou velocidades constantes ($S1 = 20$ cm/s, $S2 = 30$ cm/s, $S3 = 40$ cm/s) (Figura 1B) na seguinte sequência: A1, A2, A3, S1, S2, S3. A sequência de 6 tipos de corrida foi então repetida 8 vezes em uma sessão diária. As corridas duraram 20 segundos e foram intercaladas por intervalos de descanso de 5 segundos. O Rato 1 realizou uma sessão, enquanto os Ratos 2, 3, 4 e 5 executaram quatro sessões cada, totalizando 17 sessões. Assim, cada sessão foi registrada um total de 48 corridas, totalizando 816 corridas.

2.5 Coleta e Análise de dados

A atividade eletrofisiológica intracraniana contínua foi registrada usando um pré-amplificador *headstage* conectado por fio a um sistema multicanal (RHA2116, Intan Technologies). Sinais brutos passaram por amplificação de 200x, filtragem *bandpass* (0,02 Hz - 20 kHz) e amostragem de 30 kHz. Essas gravações eletrofisiológicas foram sincronizadas com as entradas TTL da esteira e armazenadas para análise posterior. Uma câmera digital de alta definição (Logitech C920, 1080 x 720 pixels a 30 quadros/s), posicionada perpendicularmente à esteira, capturou o vídeo do Rato 1.

A análise da simetria da forma de onda das oscilações *theta* hipocampais foi realizada em Python usando a *toolbox* ByCycle (Cole; Voytek 2019). Essa abordagem no domínio do tempo consistiu na obtenção dos picos (fase positiva), vales (fase negativa) e das fases ascendente e descendente de ciclos *theta* individuais. Inicialmente, o sinal bruto (Figura 2A) foi submetido a um filtro *low-pass* (0-30 Hz) para remover frequências altas que podem interferir com a identificação dos picos e vales, preservando assim, o desenho da forma de onda *theta* subjacente (Figura 2B). Em seguida, um filtro *band-pass* (6-12 Hz) foi aplicado para que os pontos de cruzamento com o zero (*zero-crossing*) fossem definidos (Figura 2C). Picos e vales foram definidos a partir computação do ponto máximo e mínimo entre os pontos de cruzamento com zero no sinal LFP filtrado em *low-pass* (Figura 2D). Isso possibilitou a definição dos pontos médios dos flancos, onde a voltagem representava a metade do valor da diferença entre o ponto de pico e o ponto de vale (Figura 2E).

A simetria pico-vale foi definida como a duração da fase de pico dividida pela soma da duração das fases de pico e de vale em um dado ciclo, que de acordo com Cole & Voytek (2019) foi definido como o intervalo entre dois vales. Similarmente, a simetria ascendente-descendente foi definida como a duração da fase ascendente dividida pela soma da duração das fases ascendente e descendente. Seguindo essa definição, um valor de 0,5 indica ciclos simétricos, enquanto valores menores ou maiores que 0,5 indicam ciclos assimétricos com fases de pico/ascendente mais curtas ou mais longas, respectivamente (Figura 1D). Como variações inter-hemisféricas podem indicar a especialização funcional de áreas cerebrais (Toga; Thompson, 2003). É importante ressaltar que alguns resultados apresentaram diferenças significativas ($p < 0.05$) em apenas um dos hemisférios, enquanto o outro demonstrou uma forte tendência. Embora estes casos específicos não tenham apresentado significância em ambos os hemisférios, foram marcados com “T”, para sinalizar o que considerei como significância marginal ($p < 0.10$)

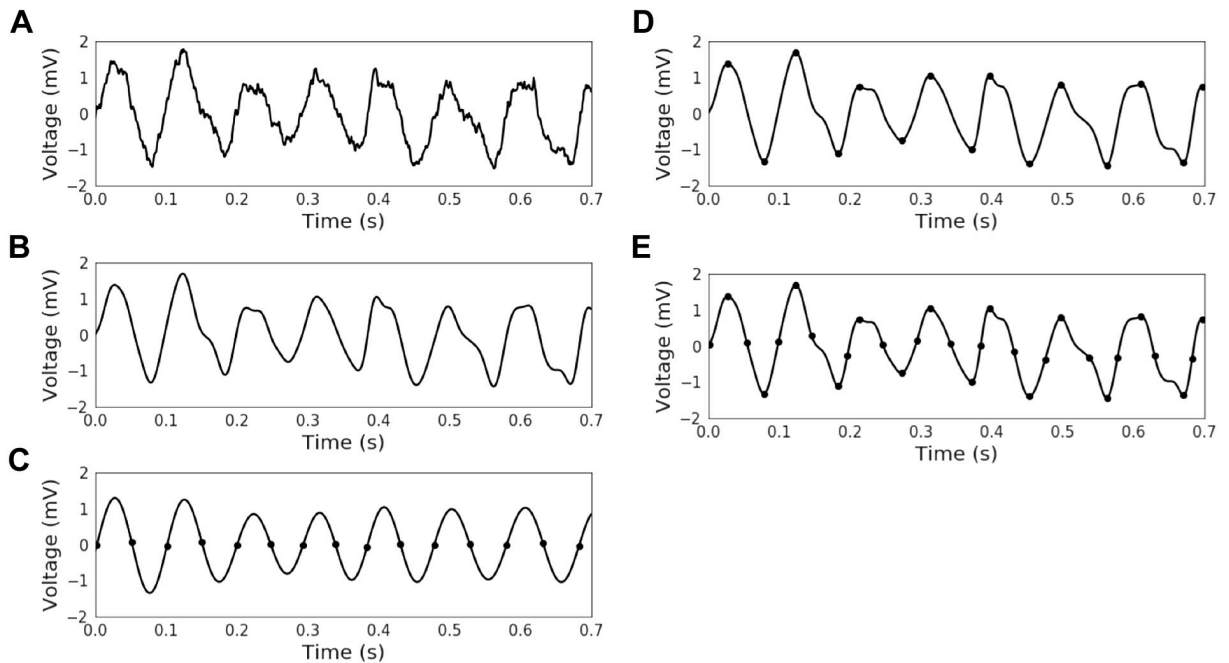


Figura 2: Processo de decomposição do LFP em ciclos. (A) Exemplo de registro de potencial de campo local bruto da camada CA1 do hipocampo de rato. (B) O sinal bruto é submetido a um filtro *low-pass* de 30 Hz para remover altas frequências. Apenas nesta etapa a transformada de Fourier é utilizada. (C) Os cruzamentos por zero (*zero-crossings*) são encontrados após o sinal ter sido submetido a um filtro *band-pass* na faixa de frequência *theta* (6-12 Hz). (D) Picos e vales são encontrados no sinal filtrado com *low-pass*, localizando os máximos e mínimos relativos entre os cruzamentos por zero encontrados no sinal filtrado em *theta*. (E) Os pontos médios dos flancos são determinados localizando os pontos no tempo em que a voltagem está na metade do caminho entre as voltagens de pico e vale adjacentes. Esses pontos denotam os limites entre pico e vale. Imagem adaptada de Cole & Voytek (2019)

2.6 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software MATLAB (MathWorks). Foram considerados significativos os resultados estatísticos $p < 0,05$. O teste de Shapiro-Wilk foi empregado para analisar a normalidade dos dados. Os dados paramétricos foram analisados por meio do teste t de student, enquanto os dados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Wilcoxon. O teste de correlação de postos de Spearman avaliou a relação entre as características da onda *theta*. Todos os resultados de $p < 0,05$ foram considerados como significativos.

3 RESULTADOS

Período do *theta* hipocampal é encurtado em velocidades mais altas

Inicialmente, busquei averiguar se o período e a amplitude do *theta* sofreram alterações quando sessões de corrida em velocidade constante de diferentes magnitudes (20 e 40 cm/s) são comparadas. Os resultados mostraram que houve um encurtamento do período de *theta* em todas as regiões em ambos os hemisférios (figura 3A). Para a amplitude, observou-se o aumento significativo da medida nas regiões CA1 e CA3, mas apenas para o hemisfério direito, em DG o aumento ocorreu em ambos os hemisférios (figura 3C).

Tempo de corrida em velocidade constante afeta o período e amplitude do *theta* hipocampal

Ao comparar blocos iniciais e finais do tempo de corrida para a mesma velocidade constante (2 cm/s²), foi verificada a diminuição significativa do período da oscilação *theta*, a mudança ocorreu em todas as regiões e em ambos os hemisférios (figura 3B). Os blocos foram definidos pelo conjunto de 20 ciclos iniciais e 20 ciclos finais do período de corrida (aproximadamente 2,5 segundos em cada bloco). Quando a mesma comparação foi feita para amplitude, apenas CA1 não apresentou aumento significativo (figura 3D).

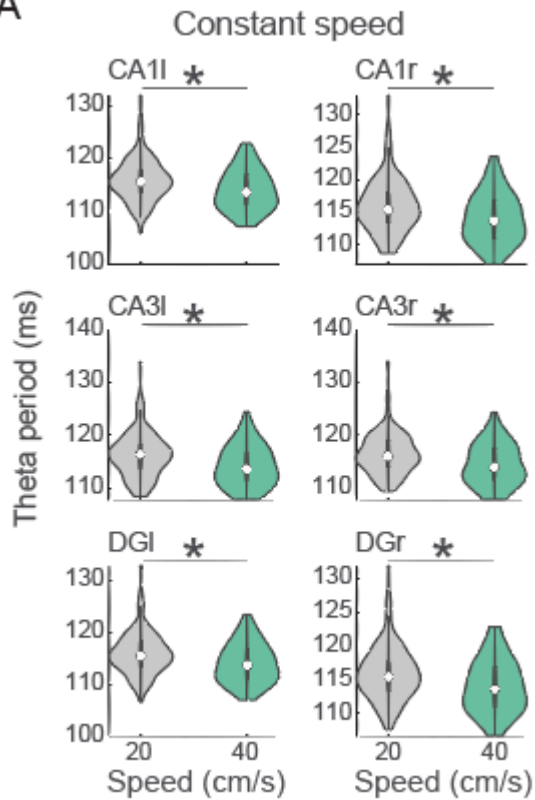
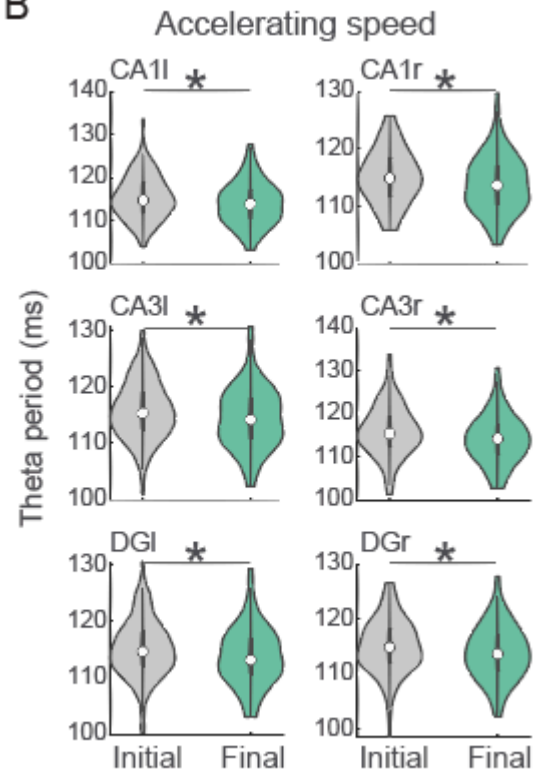
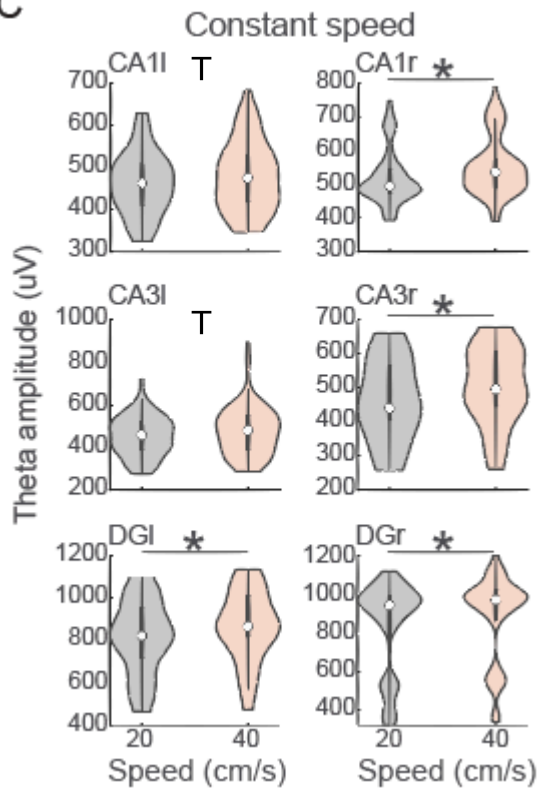
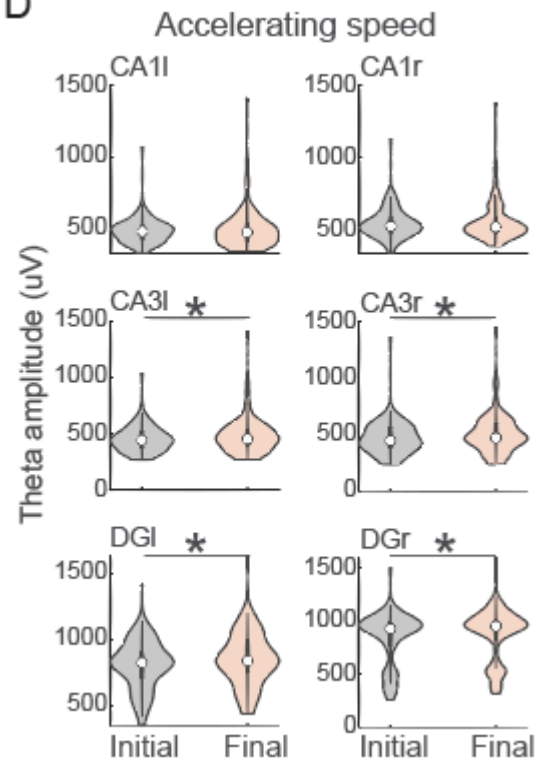
A**B****C****D**

Figura 3. Período e amplitude da onda teta durante comparação entre velocidades constantes altas e baixas (esquerda) e entre início e final do período de corrida em velocidades aceleradas (direita). (A) Comparação da duração dos períodos teta durante velocidades constantes alta (40 cm/s) e baixa (20 cm/s) para cada região do hipocampo. (B) Comparação da duração dos períodos teta entre os blocos inicial e final das velocidades de aceleradas para cada região do cérebro. (C) Comparação da amplitude teta entre velocidades constantes alta e baixa para cada região do cérebro. (D) Comparação da amplitude teta entre os blocos inicial e final da velocidade de aceleração de 1,5cm/s² para cada região do hipocampo. Os asteriscos * marcam diferenças estatisticamente significativas. Gráficos marcados como a letra “L” minúscula após o nome da região (e.g. CA1l) são referentes ao hemisfério esquerdo, enquanto os marcados com “r” referem-se ao hemisfério direito

As simetrias de pico-vale e ascendente-descendente variam conforme a região hipocampal analisada

Buscando entender a forma como ocorre a variação dos valores de simetria pico-vale e ascendente-descendente do ritmo *theta*, foi elaborado um histograma para acessar a distribuição da pontuação para cada medida de simetria (figura 4). A análise descritiva mostrou uma tendência de maior assimetria pico-vale no DG (painel superior). Notavelmente, observa-se que a medida que mais apresenta assimetria nos ciclos de *theta* é a ascendente-descendente (*rise-decay*) nas regiões CA1 e DG (painel inferior). Embora a distribuição de valores tenha mostrado uma alteração ligeira para a maioria das áreas, a média dos valores para cada área mostrou que há uma variação da simetria entre as próprias áreas do hipocampo (barras da direita).

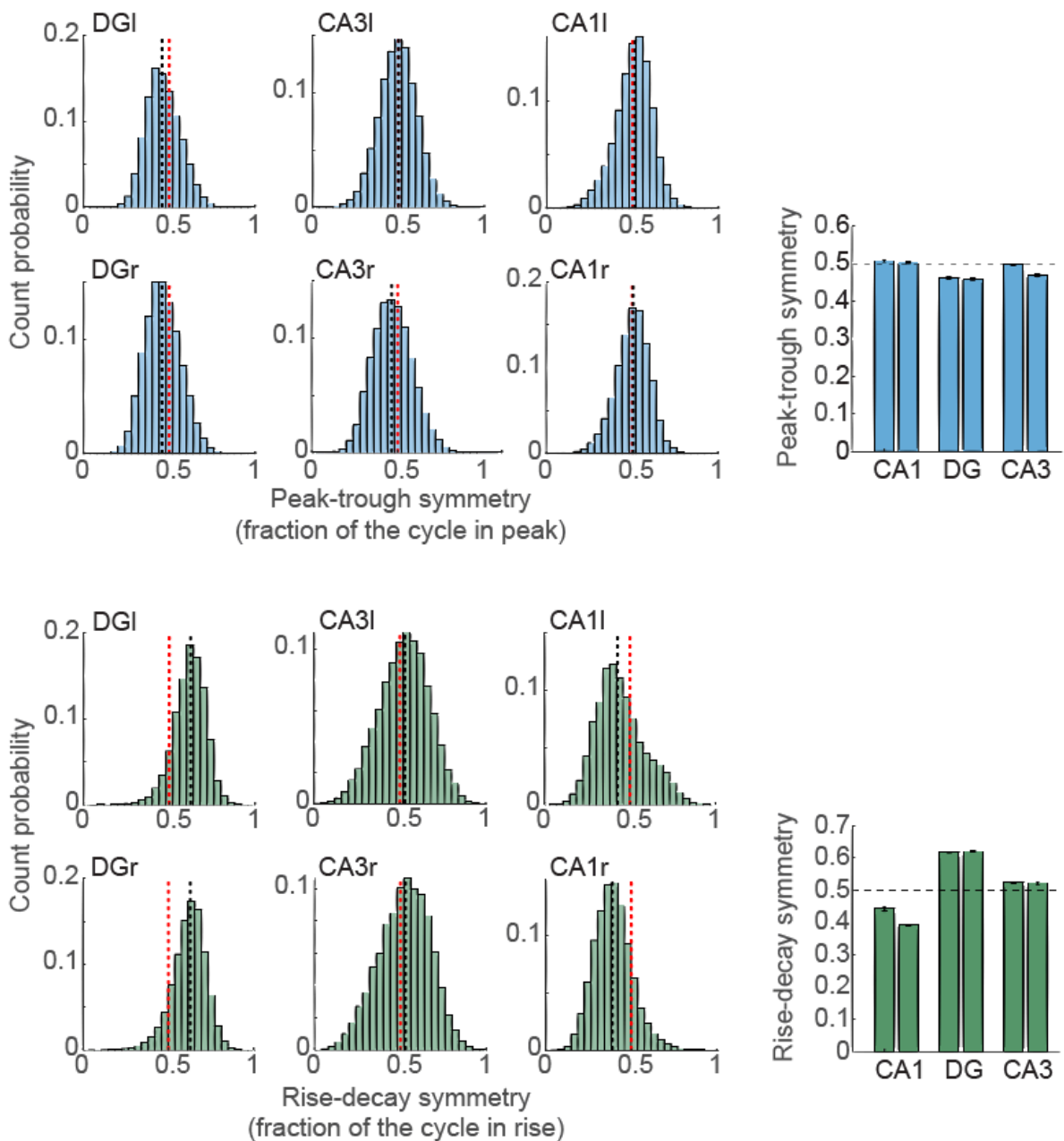


Figura 4. Histogramas da distribuição da simetria pico-vale (azul) e da simetria ascendente-descendente (verde) para cada região do hipocampo. Note que a linha vermelha tracejada indica uma simetria perfeita, quando metade da duração do período é caracterizada como pico ou ascendente, e a outra metade é caracterizada como vale ou descendente. A linha preta vertical indica a mediana da distribuição dos dados. Barras na direita representam a média e erro padrão da média dos valores dos ciclos para as respectivas simetrias nas áreas estudadas de forma bilateral, mostrando uma ligeira diferença tanto entre as áreas em si, como entre os hemisférios de algumas áreas.

Período *theta* hipocampal é alterado pela dinâmica temporal

Em seguida, para esclarecer o efeito do tempo sobre o período e a amplitude do *theta* durante a corrida em velocidade constante, comparei os blocos iniciais e finais das corridas de 40 cm/s. Surpreendentemente, os resultados mostraram um aumento do período em todas as três regiões de forma bilateral (figura 5A). Com relação à amplitude, os resultados mostraram uma diminuição significativa da amplitude apenas em CA1 (figura 5B). A alteração da duração do período entre momentos diferentes da corrida, ainda não havia sido reportada em estudos prévios.

Em seguida, para investigar se existem diferenças de período e amplitude entre blocos iniciais e finais de mesma velocidade, mas sob diferentes acelerações, comparei dois blocos de velocidades instantâneas equivalentes (figura 5C e D), variando apenas a magnitude da aceleração ($A1 = 1 \text{ cm/s}^2$ e $A3 = 1,5 \text{ cm/s}^2$). Tal comparação evidenciou um aumento do período em CA1 (figura 5C), sem resultados significativos para as demais regiões. De forma similar, a comparação da amplitude entre os trechos de velocidade equivalente com magnitudes de aceleração diferente, não resultou em significância nas três regiões avaliadas

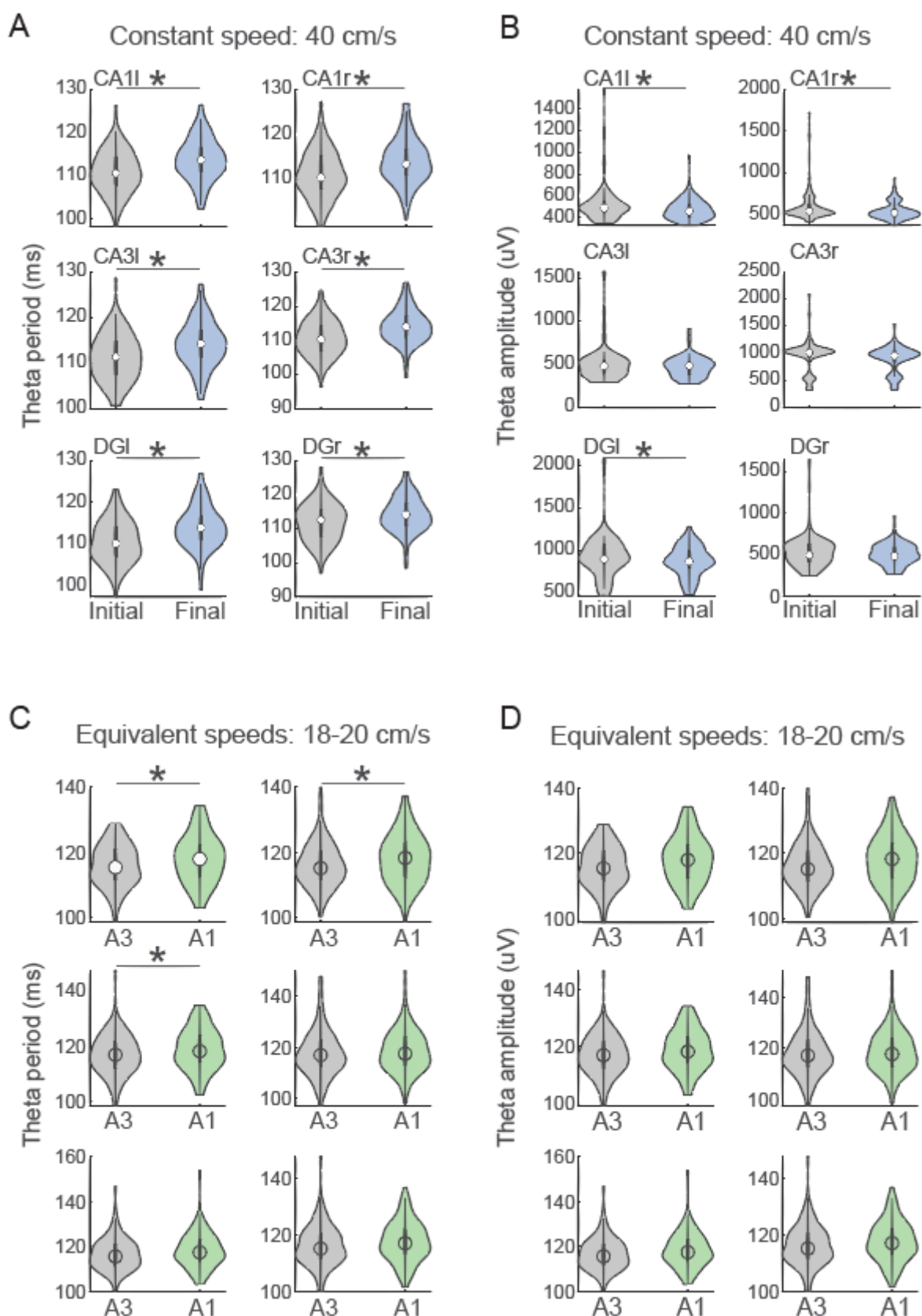


Figura 5. Análise da dinâmica temporal do período e da amplitude da onda teta sob mesmas velocidades e diferentes acelerações. (A) Comparação do período

de *theta* nos blocos inicial versus final da velocidade constante de 40 cm/s para cada região. (B) Comparação da amplitude de *theta* nos blocos inicial versus final da velocidade constante de 40cm/s para cada região. (C) Comparação do período *theta* entre as velocidades de aceleração A1 (1 cm/s²) e A3 (2 cm/s²) durante um limiar de mesma velocidade instantânea (aproximadamente 18–20cm/s) para cada região. (D) Comparação da amplitude teta entre as velocidades de aceleração A1 (1 cm/s²) e A3 (2 cm/s²) durante um limiar de mesma velocidade instantânea para cada região.

CA1 e DG apresentam diminuição nas medidas de simetria

Para clarificar a modulação exercida pela velocidade nas simetrias pico-vale e ascendente-descendente de *theta*, comparei o valor das simetrias entre as corridas em velocidade constante baixa (20 cm/s) e as corridas em velocidade constante alta (40 cm/s). Este contraste indicou que houve diminuição da simetria pico-vale de forma bilateral nas regiões CA1 e DG, enquanto CA3 não apresentou alteração significativa na simetria do *theta* (Figura 6A). De maneira similar, a simetria ascendente-descendente apresentou diminuição significativa da simetria em CA1 e DG, porém, a alteração em DG manifestou-se somente no hemisfério direito (Figura 6C).

A alteração da simetria nas corridas em velocidade acelerada também foi avaliada, objetivando a melhor compreensão dos efeitos da aceleração sobre o *theta* hipocampal como sugerido por Kropff *et al.* (2021). Tal comparação deu-se para a aceleração de maior magnitude a qual os animais foram submetidos (2 cm/s²), avaliando a diferença entre períodos iniciais da sessão, onde o animal estava em velocidades instantâneas mais baixas, e períodos finais, onde a velocidade instantânea era mais elevada.

Assim, observou-se uma diminuição da simetria pico-vale de CA1 e DG para ambos os hemisférios (figura 6B), de maneira muito semelhante à alteração para a mesma simetria quando comparadas velocidades diferentes. De maneira similar à comparação entre velocidades, a simetria ascendente descendente mostrou uma diferença significativa apenas no hemisfério direito de CA1 e DG (figura 6D).

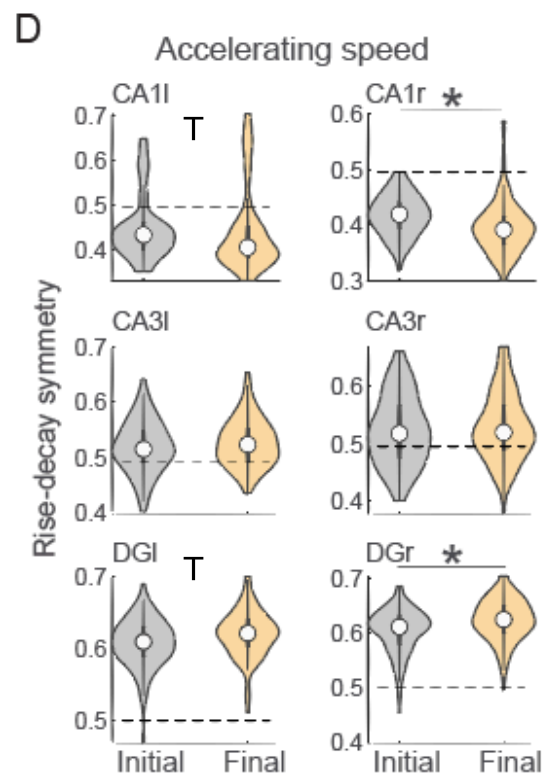
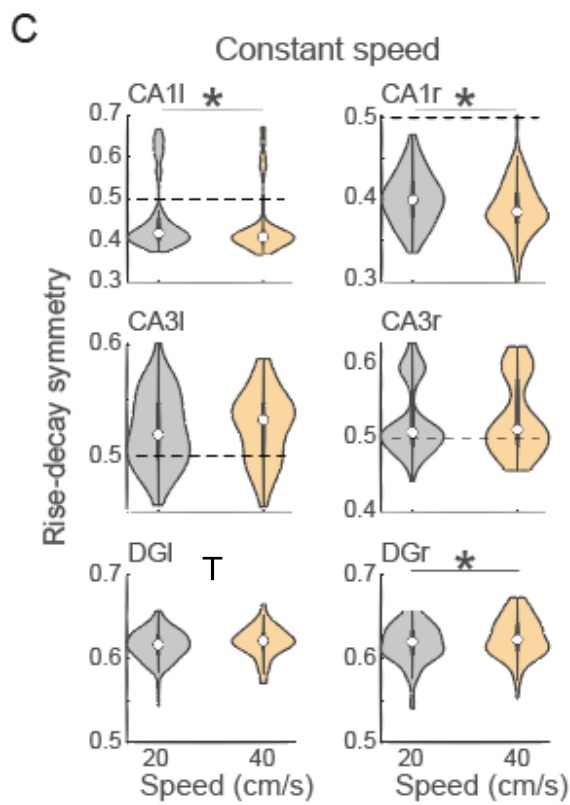
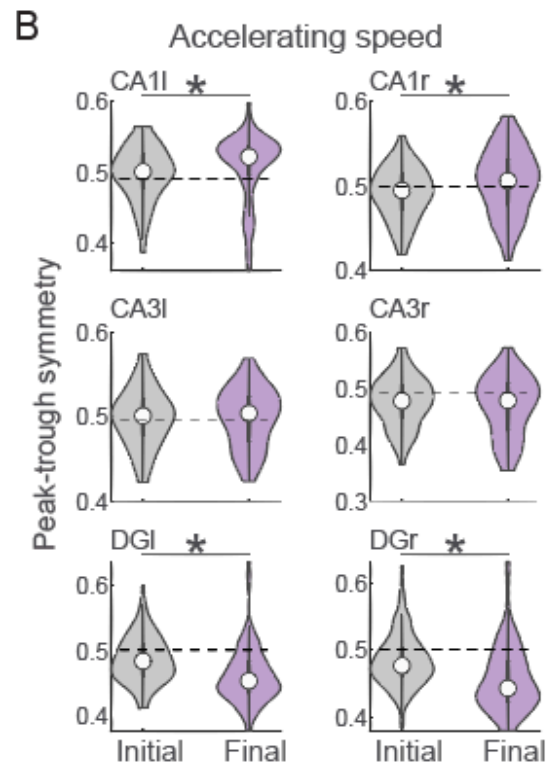
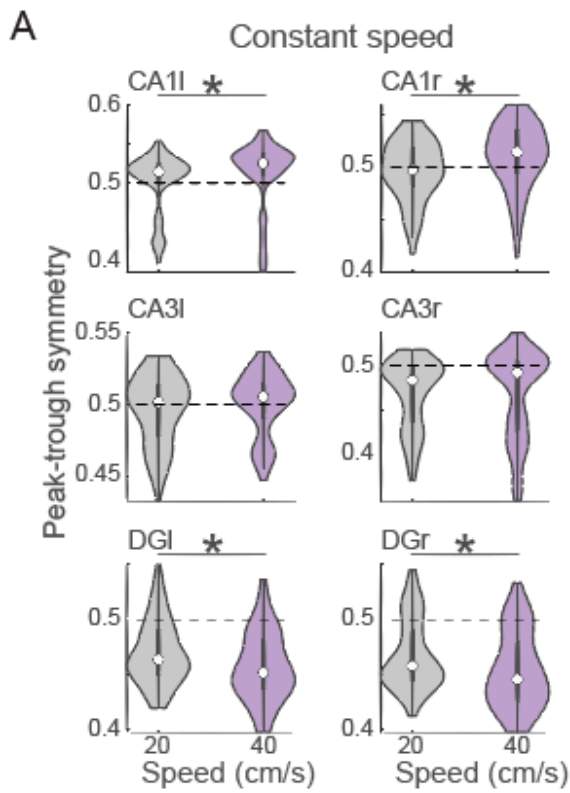


Figura 6. Comparação da simetria da forma de onda em protocolos de corrida de velocidade constante e acelerada. (A) Comparação da simetria pico-vale de baixa (20 cm/s) e alta (40 cm/s) velocidade para cada região cerebral estudada. (B) Comparação da simetria pico-vale entre as seções inicial e final da velocidade acelerada A3 (1,5 cm/s²) para cada região. (C) Comparação da simetria ascendente-descendente de baixa e alta velocidade para cada região. (D) Comparação da simetria ascendente-descendente entre as seções inicial e final da velocidade acelerada A3 para cada região.

4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O presente estudo buscou confirmar achados prévios da literatura que relatam a correlação entre velocidade de deslocamento do animal e a duração do período do ritmo *theta* hipocampal. Busquei também utilizar o arcabouço teórico de uma metodologia recente e pouco explorada de análise de sinais ciclo-a-ciclo (Cole; Voytek, 2019) para inferir as diferentes maneiras como as informações carregadas pela oscilação *theta* hipocampal podem ser alteradas pela velocidade.

Meus resultados mostraram que houve um encurtamento do período da onda *theta* com o aumento da velocidade, indicando um aumento na frequência. Esses resultados corroboram relatos anteriores da literatura, onde se observou aumentos da frequência *theta* com o aumento da velocidade de locomoção em livre movimento (Kennedy *et al.*, 2022). Foi observado também, a presença do efeito da dinâmica temporal sobre o período do *theta*, que foi evidenciada na comparação entre blocos iniciais e finais da corrida para a mesma velocidade constante (Figura 5 A e B). Esse resultado não havia sido previamente reportado na literatura, e contraria a ideia de que a frequência do ritmo *theta* é afetada apenas pela velocidade instantânea de locomoção.

A comparação entre períodos iniciais e finais com velocidade instantânea equivalente (18-20 cm/s) entre corridas de velocidade acelerada com magnitude distinta (1 e 2 cm/s²) (figura 5 C e D), mostraram a baixa influência da magnitude da aceleração sobre o período de *theta*, ao mesmo tempo que, a modulação ocasionada pelo momento de corrida diferente, não foi suficiente para que o

resultado fosse significativo. Note que os ratos correndo a 2 cm/s^2 atingiram a velocidade referente ao intervalo entre 18 e 20 cm/s em 9 segundos, enquanto na aceleração de 1 cm/s, alcançaram o intervalo em 18 segundo

A alteração das características do theta conforme o passar da corrida, apresentam um possível indicador de fadiga, sugerindo que talvez um protocolo de corrida mais atenuado, que não inclua várias corridas seguidas em uma sessão longa, seja mais adequado para isolar essa possível fonte de variabilidade no sinal registrado.

Outro aspecto importante do estudo foi a investigação do papel da aceleração na modulação do ritmo *theta*, uma vez que tanto a aceleração quanto a velocidade são fenômenos relacionados, embora distintos. Como a maior parte dos estudos que se propuseram esclarecer o papel da velocidade de deslocamento no ritmo *theta* do hipocampo utilizaram animais movendo-se livremente em campo aberto (Zhan, 2015; Oddie, 1998; Pan; Mcnaughton, 2002), surge o questionamento quanto a qual fenômeno está de fato sendo medido. Em virtude da inter-relação entre os dois fenômenos, os períodos no qual o animal se move podem ser descritos tanto em termos de sua velocidade instantânea, quanto da intensidade de aceleração ocorrida. Assim, o uso da esteira com velocidade e aceleração controlada foi crucial para garantir uma amostragem robusta do sinal eletrofisiológico enquanto o animal se desloca, ao mesmo tempo que garantiu o deslocamento em velocidade e aceleração com intensidade pré determinada.

Quanto aos efeitos do deslocamento do animal em relação às medidas de simetria, os resultados mostraram que CA1 e DG apresentaram diferenças significativas, especialmente com relação a simetria pico-vale, que apresentou mudanças em ambos os hemisférios, corroborando o que foi reportado por Shremet *et al.* (2016). A análise da simetria ascendente-descendente revelou uma predominância de resultados significativos no hemisfério direito das regiões CA1 e DG. Tais achados sugerem que as alterações induzidas pela corrida, independentemente do regime de velocidade (constante ou acelerada), apresentam especificidade regional e lateralização. Investigações futuras devem ser conduzidas para aprofundar a relação entre o tipo de deslocamento e a dinâmica hemisférica nessas sub-regiões.

Furtunato *et al.* (2020) observaram uma redução da amplitude de *theta* ao longo de várias corridas de mesma velocidade. De forma similar, os resultados do presente estudo encontraram redução da amplitude do *theta* hipocampal entre períodos iniciais e finais para corridas de mesma velocidade em CA1, sugerindo que há efeito da dinâmica temporal na modulação da energia de *theta* para esta região específica.

Estudos futuros deverão considerar ainda a análise de sobreposição das formas de onda através de diversos ciclos *theta*, um passo importante na investigação morfológica dos sinais em diferentes condições ou porções diferentes dentro da mesma condição, tornando mais fácil a visualização dos ciclos estudados. Além disso, a combinação das métricas de simetria utilizadas para aferir a proporção das fases ascendente-descendente e pico-vale podem ser usadas para formar uma medida única, refletindo o centro de massa da onda e salientando a mudança no formato da onda de maneira global.

Outra questão importante a ser considerada em estudos deste tipo é a forma como ocorre o deslocamento do animal, que pode ser descrita de várias maneiras. Considerando de forma ampla as possibilidades de movimento, podemos classificá-los com relação a sua direcionalidade, podendo ser linear, circular ou mesmo em pulos (Hanslmayr *et al.*, 2007; Klimesch, 1999). A forma da marcha em si, depende da velocidade instantânea do animal, e também poderá ser ponderada quanto ao seu efeito no *theta*. Uma caracterização básica dos tipos de marcha é composta por três tipos: andar, galope (ou trote) e corrida propriamente dita (Whishaw; Kolb, 2005). Dessa forma, é salutar que estudos futuros explorem os efeitos eletrofisiológicos do deslocamento de roedores de forma ampla, visando expandir a quantidade de dados passíveis de serem agregados nas análises a fim de estabelecer conexões entre os diversos aspectos envolvidos com os processos eletrofisiológicos relacionados ao movimento animal.

Saliento a necessidade de combinar a implementação da metodologia ciclo-a-ciclo com análises de transformadas tradicionais, dado que essas abordagens se provaram bem sucedidas em estabelecer ligações entre oscilações neurais e processos cognitivos ou patológicos (Cole; Voytek, 2019).

REFERÊNCIAS

BARTZ, S. et al. Analyzing the waveshape of brain oscillations with bicoherence. **NeuroImage**, v. 188, p. 145–160, mar. 2019.

BLAND, B. H.; ODDIE, S. D. Theta band oscillation and synchrony in the hippocampal formation and associated structures: the case for its role in sensorimotor integration. **Behavioural Brain Research**, v. 127, n. 1-2, p. 119–136, dez. 2001.

BUZSÁKI, G. Theta rhythm of navigation: Link between path integration and landmark navigation, episodic and semantic memory. **Hippocampus**, v. 15, n. 7, p. 827–840, 2005.

BUZSÁKI, G.; MOSER, E. I. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. **Nature Neuroscience**, v. 16, n. 2, p. 130–138, 28 jan. 2013.

BUZSÁKI, G.; RAPPELSBERGER, P.; KELLÉNYI, L. Depth profiles of hippocampal rhythmic slow activity (“theta rhythm”) depend on behaviour. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 61, n. 1, p. 77–88, jul. 1985.

COLE, S. R. et al. Nonsinusoidal Beta Oscillations Reflect Cortical Pathophysiology in Parkinson’s Disease. **The Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 18, p. 4830–4840, 17 abr. 2017.

COLE, S. R.; VOYTEK, B. Brain Oscillations and the Importance of Waveform Shape. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 21, n. 2, p. 137–149, fev. 2017.

COLE, S.; VOYTEK, B. Cycle-by-cycle analysis of neural oscillations. **Journal of Neurophysiology**, v. 122, n. 2, p. 849–861, 1 ago. 2019.

FURTUNATO et al. Specific Increase of Hippocampal Delta Oscillations Across Consecutive Treadmill Runs. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, 23 jun. 2020.

GERBER, E. M. et al. Non-Sinusoidal Activity Can Produce Cross-Frequency Coupling in Cortical Signals in the Absence of Functional Interaction between Neural Sources. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, p. e0167351–e0167351, 12 dez. 2016.

HANSLMAYR, S. et al. Prestimulus oscillations predict visual perception performance between and within subjects. **NeuroImage**, v. 37, n. 4, p. 1465–1473, out. 2007.

KENNEDY, J. P. et al. A Direct Comparison of Theta Power and Frequency to Speed and Acceleration. **Journal of Neuroscience**, v. 42, n. 21, p. 4326–4341, 25 maio 2022.

KLIMESCH, W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. **Brain Research Reviews**, v. 29, n. 2-3, p. 169–195, abr. 1999.

KROPFF, E. et al. Frequency of theta rhythm is controlled by acceleration, but not speed, in running rats. **Neuron**, v. 109, n. 6, p. 1029-1039.e8, mar. 2021.

NEVES, L. et al. Theta and gamma oscillations in the rat hippocampus support the discrimination of object displacement in a recognition memory task. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 16, 21 dez. 2022.

ODDIE, S. Hippocampal Formation Theta Activity and Movement Selection. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 22, n. 2, p. 221–231, mar. 1998.

PAN, W.-X.; MCNAUGHTON, N. The role of the medial supramammillary nucleus in the control of hippocampal theta activity and behaviour in rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 9, p. 1797–1809, nov. 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Amsterdam ; Boston ; London: Elsevier/Academic, 2009.

REICHEL, A. C. et al. The spontaneous location recognition task for assessing spatial pattern separation and memory across a delay in rats and mice. **Nature Protocols**, v. 16, n. 12, p. 5616–5633, 1 dez. 2021.

SHEREMET, A.; BURKE, S. N.; MAURER, A. P. Movement Enhances the Nonlinearity of Hippocampal Theta. v. 36, n. 15, p. 4218–4230, 13 abr. 2016.

TESCHE, C. D.; KARHU, J. Theta oscillations index human hippocampal activation during a working memory task. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 2, p. 919–924, 18 jan. 2000.

TOGA, A. W.; THOMPSON, P. M. Mapping brain asymmetry. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 1, p. 37–48, jan. 2003.

UHLHAAS, P. J.; SINGER, W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 100–113, fev. 2010.

VÍTOR LOPES-DOS-SANTOS et al. Parsing Hippocampal Theta Oscillations by Nested Spectral Components during Spatial Exploration and Memory-Guided Behavior. **Neuron**, v. 100, n. 4, p. 940-952.e7, 18 out. 2018.

WHISHAW, I. Q.; KOLB, B. **The Behavior of the Laboratory Rat**. [s.l.] Oxford University Press, 2005.

ZHAN, Y. Theta frequency prefrontal–hippocampal driving relationship during free exploration in mice. **Neuroscience**, v. 300, p. 554–565, 30 maio 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador professor Hindiael pela ajuda, paciência e por todo conhecimento repassado. Ao meu pai Marcos e minha mãe Ana pelo amor e incentivo, à Rosinha por me acolher em sua casa e em sua vida com imenso carinho. Agradeço aos meus amigos pelas conversas valiosas e apoio durante estes anos, em especial à Caian Matos e Valentina Gastelú. Agradeço também à minha querida “Fefê” pelo cuidado, companheirismo e ajuda. Sem vocês não seria possível concluir este trabalho e alçar voos mais altos em minha trajetória acadêmica. Agradeço a UFRN pelas oportunidades e por proporcionar um ambiente estimulante onde pude desenvolver-me intelectualmente. Por fim, agradeço ao CNPq pela pelo apoio financeiro.