



Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Física

Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada

Análise espectral do tratamento via LTP
em ratos com epilepsia induzida

Eugenio Luiz Carneiro Valdez Candeias

Dissertação de Mestrado

Recife - PE

21 de fevereiro de 2019

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Física

Eugenio Luiz Carneiro Valdez Candeias

**Análise espectral do tratamento via LTP
em ratos com epilepsia induzida**

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada do Departamento de Física da Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Física Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Borko Stosic

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Carelli

**Recife - PE
21 de fevereiro de 2019**

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

C216a Candeias, Eugênio Luiz Carneiro Valdez
Análise espectral do tratamento via LTP em ratos com
epilepsia
induzida / Eugênio Luiz Carneiro Valdez Candeias. – 2019.
68 f.: il.

Orientador: Borko Stosic.
Coorientador: Pedro Valadão Carelli.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada, Recife,
BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Epilepsia 2. Causalidade de Granger 3. Potenciação de
longo
prazo 4. Convulsões 5. Sistemas Anticonvulsivantes
Endógenos
I. Stosic, Borko, orient. II. Carelli, Pedro Valadão, coorient. III.
Título

CDD 621

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA

**Análise espectral do tratamento via LTP
em ratos com epilepsia induzida**

Eugenio Luiz Carneiro Valdez Candeias

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Física, defendida e aprovada por unanimidade em 21/02/2019 pela Comissão Examinadora.

Orientador:

Prof. Dr. Borko Stosic
DF-UFRPE

Co-orientador:

Prof. Dr. Pedro Carelli
DF-UFPE

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Pedro Hugo de Figueirêdo
DF-UFRPE

Prof^ª. Dr^a. Fernanda Selingardi Matias
IF-UFAL

Agradecimentos

Este trabalho só foi possível com a ajuda da minha avó Maria Luiza e de meus pais Edite e Carlos, que sempre incentivaram minha jornada, a eles o meu muito obrigado. Gostaria de agradecer também a minha esposa Alanne e ao meu filho Leozinho por me darem o suporte em toda a jornada até aqui.

Agradeço também aos meus amigos e professores do departamento na UFRPE e aos amigos do laboratório na UFPE, sem todo o apoio de vocês essa jornada seria mais dura, certamente.

Um muito obrigado aos meus orientadores Borko Stosic, pela sua paciência e confiança depositada em mim, e ao Pedro Carelli, por me guiar ao longo da construção desse trabalho.

Não poderia deixar de agradecer à professora Fernanda Matias, que de certa forma, tornou esse trabalho possível no meu pouco tempo sob sua orientação.

Por fim, agradeço à CAPES pelo suporte financeiro.

Resumo

A epilepsia é um conjunto de doenças cujo ponto em comum é a crise epilética, porém o sistema nervoso central tem mecanismos que protegem o cérebro contra o hiper-sincronismo epilético. Esses mecanismos, que são um conjunto de adaptações metabólica, hemodinâmica e sináptica, recebem o nome de sistemas anticonvulsivantes endógenos (SAEs). Tanto a inibição da substância negra parte reticulada (SNPr) como a desinibição do corpo estriado (CE) são anticonvulsivantes, e alguns estudos indicam que a SNPr tem uma forte relevância no controle de convulsões. Nosso grupo realizou um protocolo de potenciação de longo prazo (*long-term potentiation* - LTP) em ratos da linhagem *Long-Evans* através da estimulação elétrica de alta frequência no CE e captamos o potencial evocado na SNPr, no CE e no hipocampo (HIPO). Todos os resultados comportamentais foram promissores, como uma maior quantidade de quadrados andados e autolimpeza no grupo experimental, entre outros. Neste trabalho fizemos uma análise espectral, aplicando técnicas de análise de dados neurais nos potenciais de campo locais (*local field potential* - LFP) - das três regiões do cérebro - coletados nos experimentos. Utilizamos a transformada rápida de Fourier (*fast Fourier transform* - FFT) para identificar o nível de ruído dos dados, quando necessário aplicamos um filtro de rejeita faixa para eliminar a linha de interferência (60 Hz). Para identificar a causalidade entre as regiões da SNPr, CE e HIPO, utilizamos a coerência e causalidade de Granger e conseguimos comprovar uma causalidade maior quando envolvia a SNPr. Confirmamos nossos dados utilizando outra técnica que consiste em embaralhar a sequência de dados, quebrando sua correlação temporal. Onde foi detectado que sem essa correlação, a magnitude de nossos resultados tiveram expressivas quedas.

Palavras-chave: Causalidade de Granger, Potenciação de longo prazo, Crises convulsivas, Epilepsia.

Abstract

Epilepsy is a set of diseases whose point in common is the epileptic seizure, and the central nervous system has mechanisms that protect the brain against epileptic hypersynchronism. These mechanisms, which are a set of metabolic, hemodynamic and synaptic adaptations, are called endogenous anticonvulsant system (SAEs). Some studies shows that the substantia nigra pars reticulata (SNPr) has a strong relevance in the control of seizures, that both SNPr inhibition and striatum (STR) excitation are anticonvulsants. Our group realizes a LTP protocol in Long-Evans rats by high frequency electrical stimulation on STR and record the evoked potential in the SNPr, STR and hippocampus (HIPO). All behavioral results were promising, such as a quantity of walked squares and self-cleaning in the experimental group, among others. In this work we did a spectral analysis, applying techniques of neural data analysis in the local field potential (LFP) - of the three regions - collected in the experiment. We use the fast Fourier transform (FFT) to identify the noise level in the data set, when necessary we apply a reject filter to eliminate the powerline interference (60 Hz). To identify the causality between SNPr, STR and HIPO regions, we use techniques of signal processing, such as coherence and Granger causality and we could verify a greater causality when the SNPr was involved. We confirm our data using another technique consisting of surrogating the data sequence, breaking the temporal correlation. Without this correlation, the magnitude of our results had significant declines.

Keywords: Granger causality, Long-term potentiation, Seizures, Epilepsy.

Sumário

1	Introdução	1
2	Objetivos	3
2.1	Geral	3
2.2	Específicos	3
3	Revisão da literatura	4
3.1	Epilepsia	4
3.2	Sistemas Anticonvulsivantes Endógenos e os Núcleos da Base	5
3.3	Plasticidade Cerebral e protocolo LTP	6
4	Métodos	8
4.1	Transformada de Fourier	8
4.1.1	Transformada Rápida de Fourier	10
4.2	Filtro de ruído	12
4.3	Coerência	13
4.4	Causalidade de Granger	18
4.4.1	Causalidade de Granger no domínio da frequência	20
5	Resultados e discussão	22
5.1	Experimento	22
5.2	Análise preliminar dos dados	25

5.2.1	Dados do grupo experimental	25
5.2.2	Dados do grupo controle	29
5.3	Causalidade de Granger	35
6	Conclusões e perspectivas	41
7	Codigos utilizados	43
7.1	Código da transformada rápida de Fourier	43
7.2	Código da coerência e causalidade de Granger	46
	Referências Bibliográficas	55

Lista de Figuras

3.1	Principais componentes dos NBs de um mamífero, como o globo pálido (GP), núcleo subtalâmico (STN), corpo estriado (STR), substância negra parte reticulada (SNr) e hipocampo (Hippocampus). As setas vermelhas e azuis indicam conexões excitatórias e inibitorias, respectivamente. <i>Disponível em: https://reliawire.com/basal-ganglia/</i>	6
4.1	Aplicação da transformada de Fourier para uma onda quadrada.	9
4.2	Aplicação da transformada de Fourier com a utilização de 270 harmônicos . .	10
4.3	Exemplo do espectro de potência de uma série temporal e seu dado bruto dos potenciais de campo locais	11
4.4	Exemplo do filtro rejeita faixa aplicado em um canal ocioso com uma linha robusta de interferência de ruído	12
4.5	Dado bruto e filtrado do canal com o ruído da figura 4.4 (a) da captação completa e (b) nos primeiros 500 ms	13
4.6	Autocorrelação calculada dos volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.	14
4.7	Correlação calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.	15
4.8	Densidade espectral de potência cruzada calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.	16
4.9	Coerência calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.	17

5.1	Resultados da análise da contagem de quadrados andados, <i>rearing</i> , <i>wet dog shakes</i> e autolimpeza feita no trabalho de dissertação do Igor Tchaikovsky [1]	24
5.2	Resultados da análise de tempo imóvel feita no trabalho de dissertação do Igor Tchaikovsky [1]	24
5.3	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados de um rato do grupo experimental	26
5.4	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados de um rato do grupo experimental	27
5.5	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados de um rato do grupo experimental	28
5.6	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados de um rato do grupo controle	29
5.7	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados de um rato do grupo controle	30
5.8	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados de um rato do grupo controle	31
5.9	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle	32
5.10	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle	33
5.11	Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle	34
5.12	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (8) e do HIPO (15), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental	35
5.13	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (8) e do HIPO (15), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle	36

5.14	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (7), do CE (24) e do HIPO (13), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental	37
5.15	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (7), do CE (24) e do HIPO (13), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle	38
5.16	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (22) e do HIPO (31), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental	39
5.17	Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (22) e do HIPO (31), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle	40

Lista de Tabelas

5.1	Lista de canais da matriz de eletrodos por região	23
-----	-------------------------------------------------------------	----

Lista de Abreviaturas

APAC	Agência Pernambucana de Águas e Clima
CE/STR	Corpo Estriado/ <i>Striatum</i>
LTD	Depressão de longa duração
AEDs	Drogas antiepiléticas
EEG	Eletroencefalograma
GP	Globo pálido
HIPO	Hipocampo
NBs	Núcleos da base
LTP	Potenciação de longo prazo
LFP	Potencial de campo local
SAEs	Sistemas Anticonvulsivantes Endógenos
SNPr/SNr ...	Substância Negra (parte reticulada)/ <i>Substantia nigra (pars reticulata)</i>
FFT	Transformada rápida de Fourier

Capítulo 1

Introdução

Um dos distúrbios mais comuns no cérebro humano, a epilepsia é um conjunto de doenças que tem como ponto em comum as crises epiléticas [2]. Chegando a atingir cerca de 5% da população mundial (*International League Against Epilepsy*, 2017), os tratamentos mais comuns consistem na utilização de drogas antiepiléticas (*antiepileptic drugs* - AEDs), que não trazem resultados significantes, deixando cerca de 25 a 30% dos pacientes acometidos pela doença sem sucesso no tratamento [3, 4, 5]. Durante a epilepsia, ocorre um distúrbio na comunicação intercelular que causa um hipersincronismo epilético, onde vários disparos intensos e rítmicos são detectados no cérebro, podendo ser local ou generalizado [6, 7, 8, 9]. O próprio sistema nervoso central tem mecanismos que auxiliam na proteção destes distúrbios, conhecidos hoje por Sistemas Anticonvulsivantes Endógenos (SAEs).

Os núcleos da base (NBs) são estruturas que têm como principais funções aspectos cognitivos do movimento, como a escolha e execução de tarefas motoras. Sendo assim, uma disfunção nos NBs pode causar alterações no controle muscular, ocasionando dentre outras anomalias, tremores [10]. Fazem parte no NB o globo pálido, o núcleo subtalâmico, o corpo estriado (CE) e a substância negra parte reticulada (SNPr). A comunicação entre essas regiões cerebrais é feita através de sinapses, que são a principal forma de transmissão e processamento de informação no sistema nervoso central [11]. Essas sinapses estão sujeitas a alterações que podem variar na sua quantidade ou força. Acredita-se que essas mudanças afetam a capacidade de armazenamento de informação e aprendizagem, a este fenômeno

biológico damos o nome de plasticidade sináptica [12]. Vários procedimentos experimentais foram realizados a fim de induzir plasticidade sináptica e utilizando diferentes técnicas [13, 14, 15, 16, 17, 18].

Nosso grupo acredita que o protocolo de potenciação de longo prazo (*long-term potentiation* - LTP) via estimulação elétrica de alta frequência no corpo estriado, causará mudanças nos circuitos neurais dos NBs alterando o comportamento e o potencial evocado na via estriado-nigral. Resultados comportamentais promissores já foram obtidos na dissertação que serviu como base para este trabalho [1]. Nosso objetivo agora é tentar comprovar tais resultados fazendo uma análise da conectividade da substância negra parte reticulada (SNPr) com o corpo estriado (CE) e o hipocampo (HIPO). Para isso, coletamos os dados do potencial evocado dos experimentos realizados e implementando algumas técnicas de análise espectral entre séries temporais, tais como a coerência, a transformada rápida de Fourier e a causalidade de Granger espectral.

Os procedimentos experimentais foram realizados com 8 ratos da linhagem *Long-Evans*, onde todos os animais receberam todo o protocolo de implante da matriz de eletrodos e indução de crise convulsiva via pilocarpina. Mas, apenas a metade recebeu a estimulação elétrica de alta frequência.

Esta dissertação está organizada da seguinte forma: no Capítulo 2, discutimos os objetivos gerais e específicos do problema de interesse. No Capítulo 3, fazemos uma revisão da literatura acerca da Epilepsia e das estruturas cerebrais que desenvolvem um papel importante no desenvolvimento e controle da doença. No Capítulo 4, mostramos todos os métodos que utilizamos para a análise dos dados obtidos nos experimentos. No Capítulo 5, apresentamos os resultados dos experimentos e mostramos os resultados obtidos. No Capítulo 6, apresentamos as conclusões e perspectivas. Por fim, no Capítulo 7, mostramos os códigos utilizados no trabalho.

Capítulo 2

Objetivos

2.1 Geral

- Analisar a conectividade neural entre a substância negra parte reticulada (SNPr), o corpo estriado (CE) e o hipocampo (HIPO) em ratos com epilepsia induzida por pilocarpina e que tiveram um tratamento por potenciação de longo prazo (*long term potentiation* - LTP).

2.2 Específicos

- Fazer uma análise espectral preliminar dos dados obtidos do experimento;
- Filtrar os dados comprometidos com algum nível de ruído;
- Identificar as principais frequências de oscilação de cada região cerebral, através da transformada de Fourier;
- Calcular a coerência entre os canais das regiões cerebrais;
- Identificar causalidade de Granger entre o HIPO, CE e SNPr.

Capítulo 3

Revisão da literatura

Neste capítulo discutimos um pouco da doença estudada e suas causas e consequências, passando pelos sistemas anticonvulsivantes endógenos, a plasticidade e as regiões do cérebro influentes no controle de crises convulsivas. Vamos também trazer alguns dados importantes acerca da epilepsia ao redor do mundo.

3.1 Epilepsia

A epilepsia é definida como um distúrbio cerebral caracterizado pela predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas [19]. Na prática, se caracteriza como epilepsia a ocorrência de duas crises epiléticas não provocadas e separadas por um intervalo de no mínimo 24 horas. A epilepsia não é uma doença em particular, mas uma variedade de distúrbios que refletem uma disfunção cerebral que pode ser originária de diversas causas. Ela pode ser local, quando se manifesta em apenas uma parte do cérebro, ou generalizada, quando se manifesta em todo o cérebro [2, 9]. Existem algumas técnicas que detectam crises epiléticas como por um exame de eletroencefalograma (*electroencephalogram* - EEG) ou pelo potencial de campo local (*local field potential* - LFP) [20, 21, 22, 7, 23]. O que acontece no cérebro durante uma crise convulsiva é uma excessiva excitabilidade neuronal, alterando a comunicação intercelular normal e gerando um hipersincronismo epilético, assim, disparos intensos e rítmicos são detectados [6, 7, 8].

Mesmo sendo pouco noticiada fora do meio acadêmico, a epilepsia é a doença mais comum no cérebro humano [7], dados recentes revelam que a doença atinge cerca de 5% da população mundial (*International League Against Epilepsy*, 2017). Mesmo sendo a forma principal de tratamento, as drogas antiepiléticas (*antiepileptic drugs* - AEDs) envolvem fatores fisiológicos tais como a dosagem tolerada de cada paciente, bem como os efeitos dados por tratamentos via AEDs que falharam anteriormente e ainda estão no organismo. Sendo assim, o tratamento via AEDs não é satisfatoriamente eficaz e deixa de 25 a 30% dos pacientes sem sucesso no tratamento [3, 4, 5].

3.2 Sistemas Anticonvulsivantes Endógenos e os Núcleos da Base

Uma região do cérebro pode participar de diferentes maneiras em crises epiléticas, sendo o local de origem ou até mesmo um caminho de espalhamento [24]. Embora não houvesse uma definição do termo Sistemas Anticonvulsivantes Endógenos (SAEs) [25]¹, até a primeira metade dos anos 90 já se tinha um conhecimento da possível existência de mecanismos de controle no sistema nervoso central. Muitas linhas de pesquisa já demonstravam que, pelo menos em parte, a substância negra podia controlar a propagação e/ou geração de diferentes tipos de convulsões em animais, através de lesões, modificações bioquímicas e manipulações farmacológicas [26]. Sendo assim, é denominado de SAEs, o conjunto de adaptações metabólicas, hemodinâmicas e sinápticas do sistema nervoso, a fim de proteger o próprio sistema contra o hipersincronismo epilético.

Os núcleos ou gânglios da base (NB) são estruturas relacionadas ao movimento do corpo e suas principais funções estão no aspecto cognitivo do movimento, na escolha e execução de tarefas motoras, em contra partida, sua disfunção pode ocasionar alterações no controle recíproco dos músculos, podendo causar, entre outros fatores, tremores [10].

¹Usado inicialmente para denominar o conjunto de alterações metabólicas com efeito anticonvulsivantes causadas pelo óxido nítrico no sistema nervoso central

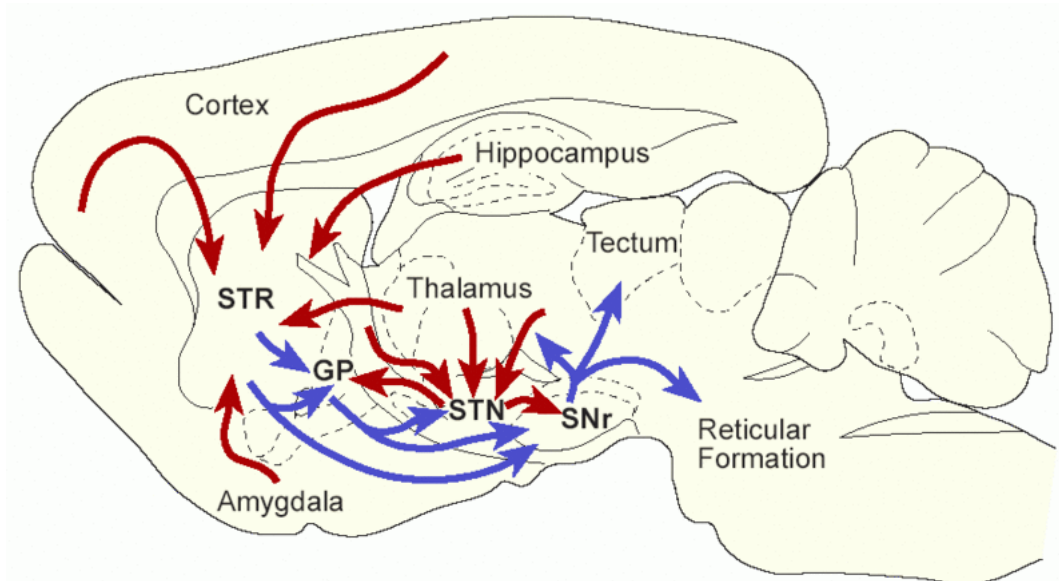


Figura 3.1: Principais componentes dos NBs de um mamífero, como o globo pálido (GP), núcleo subtalâmico (STN), corpo estriado (STR), substância negra parte reticulada (SNr) e hipocampo (Hippocampus). As setas vermelhas e azuis indicam conexões excitatórias e inibitórias, respectivamente. Disponível em: <https://reliawire.com/basal-ganglia/>

Fazem parte do NB 3.1, o globo pálido, o núcleo subtalâmico, o corpo estriado (CE) e a substância negra parte reticulada (SNPr). Há indícios de que a SNPr é uma das estruturas principais no controle de convulsões [27, 28, 29].

3.3 Plasticidade Cerebral e protocolo LTP

Estima-se que o cérebro humano tem por volta de 100 bilhões de neurônios, já o de um rato adulto tem cerca de 75 milhões de neurônios, formando assim uma extensiva rede neuronal [30]. A comunicação nessas redes de neurônios, se dá através das sinapses, que são conhecidas por serem a principal forma de transmissão e processamento de informação no sistema nervoso central [11].

Plasticidade é a habilidade de fazer adaptações relacionadas à estrutura e à funcionalidade do sistema nervoso. Após enfrentar situações como, mudanças na intensidade do estímulo, lesões no sistema nervoso central, dentre outros, sinapses e receptores podem mo-

dificar sua estrutura e função específicas [31, 32]. Existem inúmeras maneiras da plasticidade ocorrer, após eventuais lesões os receptores podem apresentar alterações plásticas, como o aumento de sítios de ligação (córtex visual) e modificações em seu acoplamento, conversão de proteínas e segundos mensageiros [31].

Existem evidências de que pacientes com epilepsia do lobo temporal - uma das mais comuns dentre os adultos (cerca de 40% de todos os casos) - resistentes ao tratamento farmacológico, têm demonstrado alterações na plasticidade neuronal [33].

Duas formas de indução de plasticidade sináptica das mais estudadas no sistema nervoso central, acontecem por potenciação de longo prazo (*long term potentiation* - LTP) e por depressão de longa duração (*long term depression* - LTD). O LTP é obtido através de repetidos estímulos elétricos de alta frequência [14, 16]. A indução de LTP foi observada pela primeira vez por Lømo em 1966 [34] e é usada como referência básica em estudos nessa área.

A fim de estudar a indução de plasticidade, vários experimentos foram realizadas. Pioneiramente por Santiago Ramón y Cajal¹ e Eugênio Tanzi sobre regeneração neural que apresentam relações diretas entre plasticidade e o sistema nervoso central. Trabalhos mais recentes como o de Kozyrev e colaboradores [18], que estudou a indução de plasticidade por meio de estimulação visual em gatos.

¹Ganhador do prêmio Nobel em 1906 junto com Camillo Golgi por seu trabalho na estrutura do sistema nervoso

Capítulo 4

Métodos

Existem várias formas de se fazer uma análise em sinais neurofisiológicos [35], em nosso trabalho usaremos algumas delas que julgamos suficiente para identificar a conectividade entre as regiões do cérebro estudadas, no controle de crises convulsivas. Neste capítulo, faremos uma breve explanação desses métodos.

4.1 Transformada de Fourier

A transformada de Fourier é uma ferramenta matemática que decompõe qualquer função f em uma soma de funções senoidais na forma de exponenciais complexas em frequências diferentes. Dessa forma, podemos reescrever qualquer função periódica ou não periódica como uma soma de funções sinusoidais. Podemos definir $g(\omega)$ como a transformada de Fourier [36] da função integrável $f(t)$ como

$$g(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i\omega t} dt. \quad (4.1)$$

Em que ω , nos problemas físicos, geralmente representa a frequência angular. Também podemos chamar $g(\omega)$ de espectro de $f(t)$.

Também podemos obter, de maneira inversa, a função $f(t)$ através do seu espectro

$g(\omega)$

$$f(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} g(\omega) e^{i\omega t} d\omega, \quad (4.2)$$

que recebe o nome de transformada de Fourier inversa.

Vamos supor uma onda quadrada dada pela fórmula

$$f(t) = \frac{4}{\pi} \sum_{k=1,3,5,\dots}^{\infty} \frac{1}{k} \sin(kt). \quad (4.3)$$

Se representarmos $f(t)$, podemos observar uma onda quadrada como na figura 4.1, representada pela linha tracejada azul. Ao aplicarmos a equação 4.1, o que obtemos é a representação no domínio da frequência da onda quadrada. E a medida que aumentamos k , aumentamos a precisão da aproximação. Usando a equação 4.3 no Matlab para alguns valores diferentes de k , podemos observar a evolução de tal aproximação

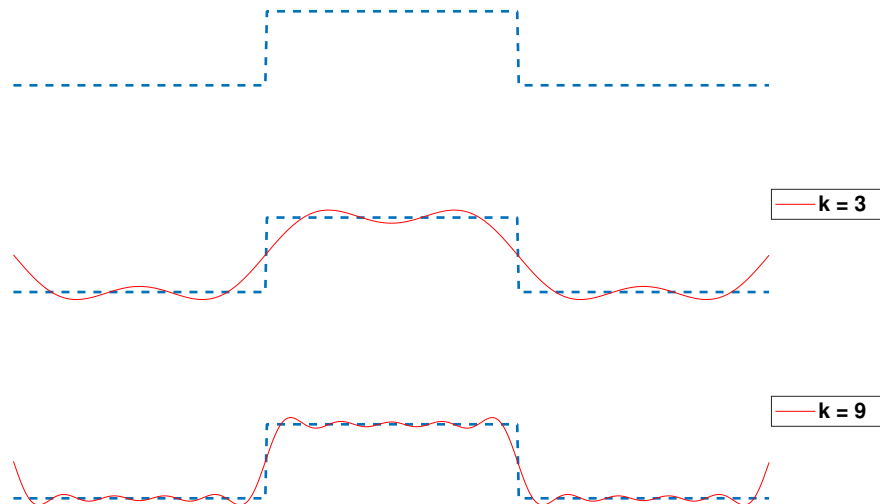


Figura 4.1: Aplicação da transformada de Fourier para uma onda quadrada.

Essa aproximação é dada pelo uso de uma quantidade mínima de harmônicos utilizados, representados pelo k , onde o 1º harmônico é dado por $k = 1$, o 2º harmônico por $k = 3$,

o 3º harmônico por $k = 5$, e assim sucessivamente. A quantidade desejada de harmônicos utilizados depende de cada função $f(t)$ que está sendo utilizada.

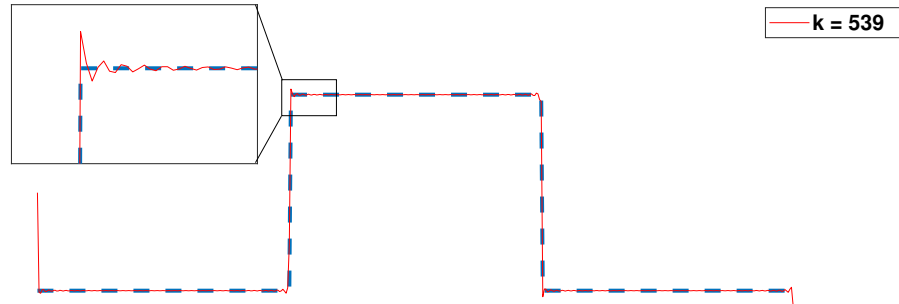


Figura 4.2: Aplicação da transformada de Fourier com a utilização de 270 harmônicos

Na figura 4.2, utilizamos até o 270º harmônico e já conseguimos identificar uma melhor aproximação do que nos primeiros harmônicos mostrados na figura 4.1.

Na região ampliada da figura 4.2 podemos observar que existe uma pequena discrepância com relação a onda quadrada para a transformação que aplicamos, chamado de fenômeno de Gibbs [37]. Sendo assim, para uma medida de precisão, essa técnica não é apropriada, principalmente nas áreas de descontinuidade de $f(t)$.

4.1.1 Transformada Rápida de Fourier

Existem várias formas se ter uma captação de sinais em seres vivos comprometidas com alto nível de ruído [38] (60 Hz), seja por fatores externos da rede elétrica, ou pelo próprio animal, funcionando como uma antena para as demasiadas irradiações as quais estamos submetidos.

A transformada rápida de Fourier (*fast Fourier transform* - FFT) é uma operação que transforma dados de um domínio do tempo ou espaço no domínio da frequência. É a principal razão dessa análise é identificar o nível de ruído de cada amostra, dessa forma, podemos identificar possíveis interferências externas que comprometam os dados coletados.

Por se tratar de longas séries temporais a serem processadas, a boa eficiência computacional no algoritmo da transformada rápida de Fourier [39] também é levada em conta.

Para ser mais preciso, o que utilizamos na verdade é o espectro de potência do sinal, para cada componente no domínio do tempo, associamos um número complexo no domínio da frequência dado por $f_n = a_n + ib_n$, multiplicando com o seu complexo conjugado, obtemos

$$f_n f_n^* = (a_n + ib_n)(a_n - ib_n) = a_n^2 + b_n^2. \quad (4.4)$$

Fazendo isso para todas as frequências f_n , e dividindo pelo número de pontos da série N , obtemos a função sobre todo o espectro S

$$S = \frac{f_n f_n^*}{N}, \quad (4.5)$$

essa normalização garante que a soma dos quadrados da série seja igual a soma de elementos do espectro de potência.

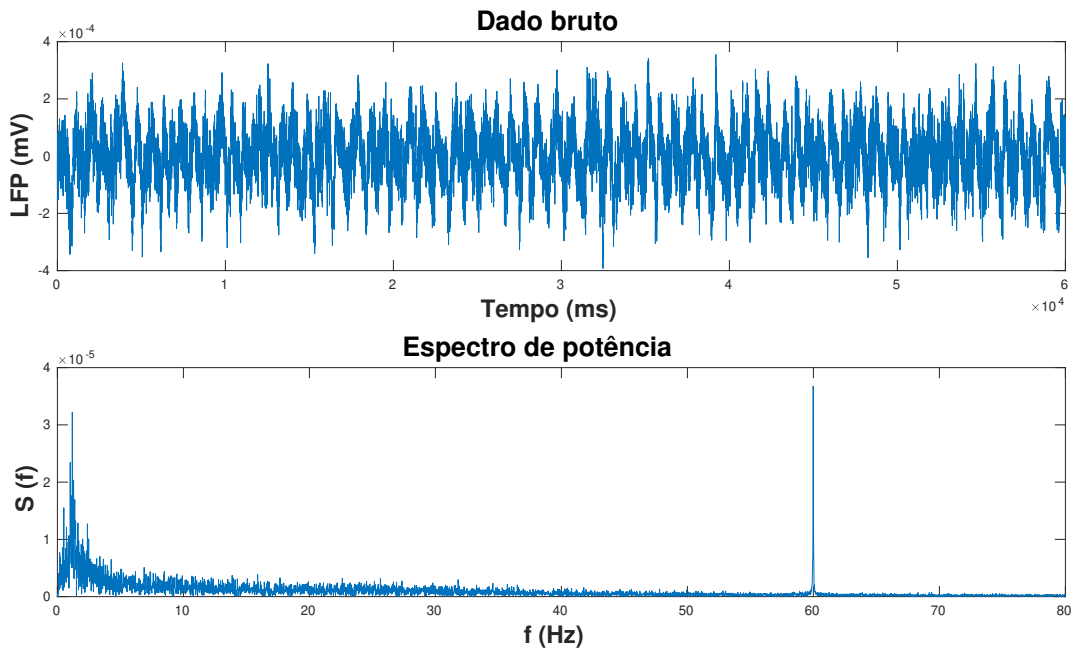


Figura 4.3: Exemplo do espectro de potência de uma série temporal e seu dado bruto dos potenciais de campo locais

Como mostrado na figura 4.3, quando calculamos o espectro de potência podemos observar o nível de ruído captado no sinal. Sendo assim, uma razão pela qual fazer essa análise preliminar em todos os dados disponíveis, já que esse tipo de interferência pode afetar as abordagens estatísticas seguintes.

4.2 Filtro de ruído

Do ponto de vista experimental, a captação de dados não é uma tarefa simples, a preparação dos animais, confecção do capacete com a matriz de eletrodos e outros empecilhos tornam isso uma tarefa meticulosa. Uma abordagem eficiente para tentar recuperar um conjunto de dados comprometidos com um alto nível de ruído, é aplicar um filtro rejeita faixa [40]. Entretanto, ao aplicar esse filtro, uma certa distorção proporcional ao tamanho da faixa é atribuída, por isso é recomendável utilizar a menor faixa possível.

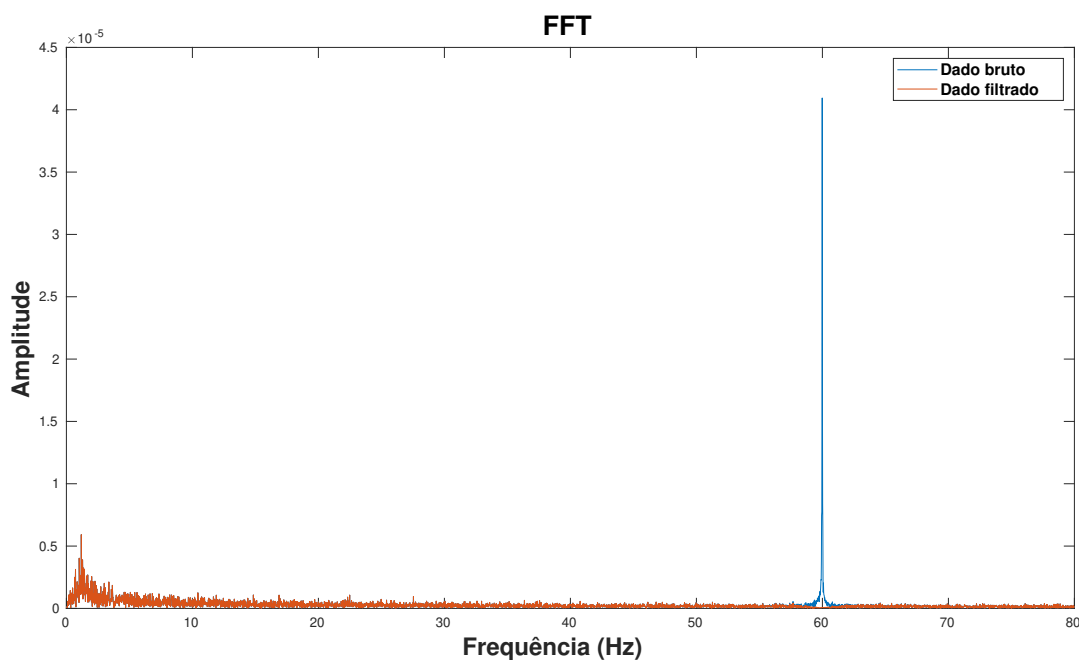


Figura 4.4: Exemplo do filtro rejeita faixa aplicado em um canal ocioso com uma linha robusta de interferência de ruído

Na figura 4.4 podemos perceber uma linha de interferência de ruído robusta (linha azul) quando a transformada rápida de Fourier é aplicada e uma atenuação quando os dados

utilizados são passados pelo filtro (linha laranja). A figura 4.5 exemplifica bem o efeito que o filtro rejeita faixa gerou no dado bruto do eletrodo.

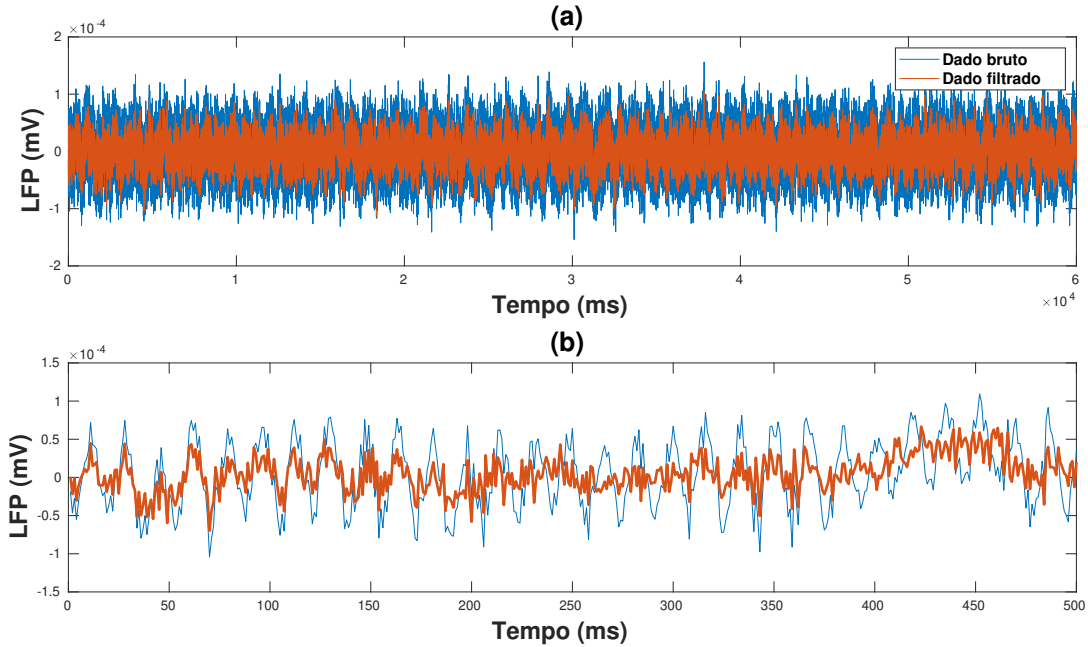


Figura 4.5: Dado bruto e filtrado do canal com o ruído da figura 4.4 (a) da captação completa e (b) nos primeiros 500 ms

4.3 Coerência

Uma das técnicas mais comuns no processamento de sinais é a coerência. Fundamental na análise de dados neuronais e no estudo das interações de picos com LFP [41]. Usaremos a definição dada por Wim van Drongelen [42]. Mas, para entender melhor a coerência, precisamos introduzir o conceito da autocorrelação. Podemos definir a autocorrelação R_{XX} de um processo X como

$$R_{XX}(t_1, t_2) = E\{x(t_1)x(t_2)\} \quad (4.6)$$

onde t_1 e t_2 são instantes arbitrários. Ou seja, a autocorrelação mostra como um processo se relaciona com ele mesmo em dois instantes quaisquer de tempo. Se o processo

é estacionário, a distribuição é invariante no tempo e depende apenas da compensação $\tau = t_2 - t_1$. Assim, (4.6) fica

$$R_{XX}(\tau) = E\{x(t)x(\tau)\} \quad (4.7)$$

Utilizando dados da Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC), calculamos a correlação cruzada e a autocorrelação dos volumes de chuvas nas regiões de Abreu e Lima, que fica na Região Metropolitana do Recife, e de Água Preta que compõe a Zona da Mata Pernambucana. Usamos o acumulado mensal no período de janeiro de 2010 até dezembro de 2018.

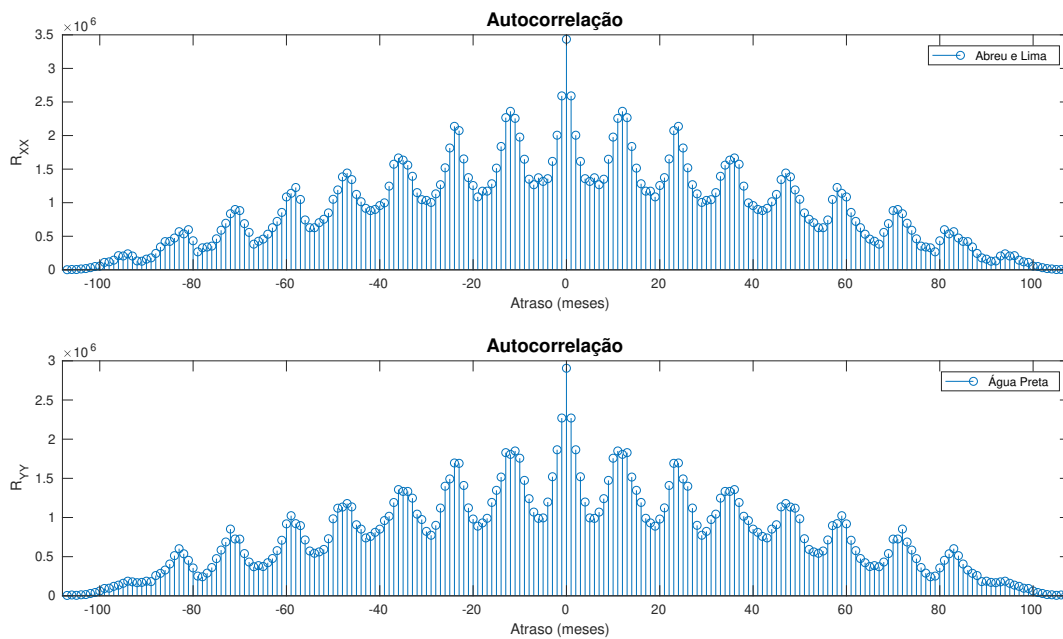


Figura 4.6: Autocorrelação calculada dos volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.

A figura 4.6 faz sentido, pois, para uma autocorrelação, ou seja, de um sinal consigo mesmo, o pico claramente se dá quando não utilizamos nenhum atraso. Os dados em questão estão disponíveis do próprio banco de dados da APAC. Os números utilizados são dos registros feitos do mês de janeiro ao mês de junho do ano de 2018. Todos os dados podem ser acessados em: <http://www.apac.pe.gov.br/meteorologia/monitoramento-pluvio.php>.

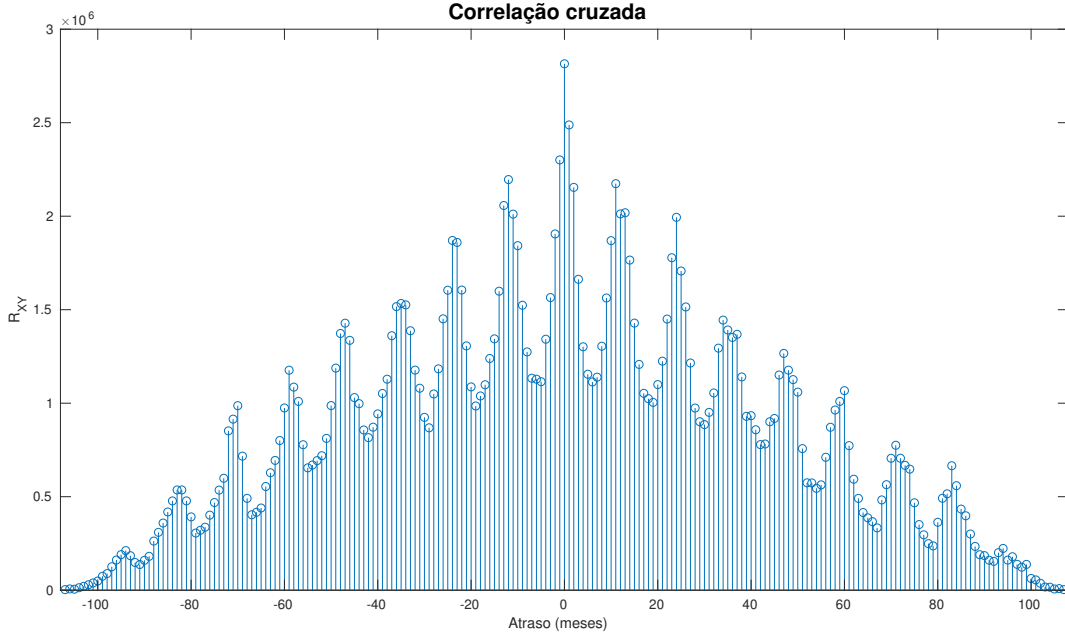


Figura 4.7: Correlação calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.

De maneira similar, agora supondo duas séries temporais $X(t)$ e $Y(t)$, a correlação cruzada R_{XY} é definida como

$$R_{XY}(t_1, t_2) = E\{X(t_1)Y(t_2)\}, \quad (4.8)$$

onde t_1 e t_2 também são instantes arbitrários. Assim, a correlação cruzada estima como o processo X é correlacionado com o processo Y .

$$R_{XY}(\tau) = E\{X(t)Y(\tau + t)\}. \quad (4.9)$$

Agora podemos definir a densidade espectral de potência cruzada $S_{XY}(f)$ como a transformada de Fourier da função de correlação cruzada

$$S_{XY}(f) = \int_{-\infty}^{\infty} R_{XY}(\tau) e^{-ift} dt = \int_{-\infty}^{\infty} \left[\int_{-\infty}^{\infty} X(\tau) \cdot Y(\tau + t) d\tau \right] e^{-ift} \quad (4.10)$$

Para sinais discretizados no tempo de tamanho N , a relação entre a densidade espectral de potência cruzada e a correlação cruzada é

$$S_{XY}(f) = \frac{1}{2\pi} \sum_{N=-\infty}^{\infty} R_{XY}(N)e^{-ifN}. \quad (4.11)$$

Utilizando os mesmos dados da APAC, também calculamos o espectro do potências, agora obtemos os valores na representação da frequência.

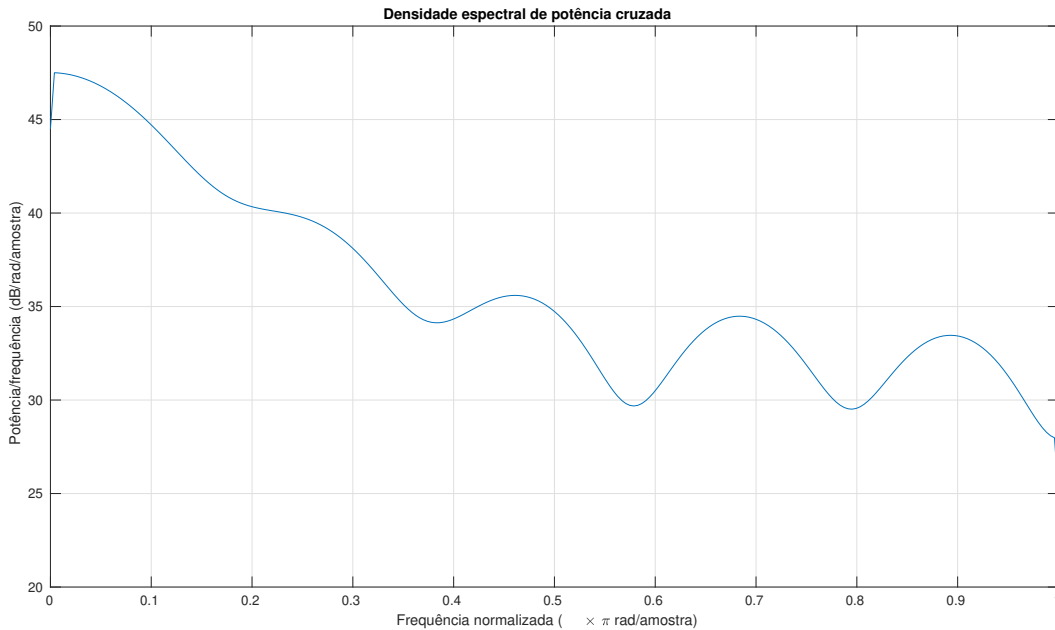


Figura 4.8: Densidade espectral de potência cruzada calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.

O espectro de potência de um sinal único é obtido de maneira similar e a auto-correlação nesse caso estima como o processo é correlacionado consigo mesmo em tempos diferentes.

Finalmente, suponha dois sinais $\mathbf{X} = X_{1t}, X_{2t}, \dots, X_{Nt}$ e $\mathbf{Y} = Y_{1t}, Y_{2t}, \dots, Y_{Nt}$, a definição de coerência C entre esses dois sinais \mathbf{X} e \mathbf{Y} é dada como o quadrado do espectro de potência cruzado S_{XY} normalizado, dividido pelo espectro de potência de cada um S_{XX}

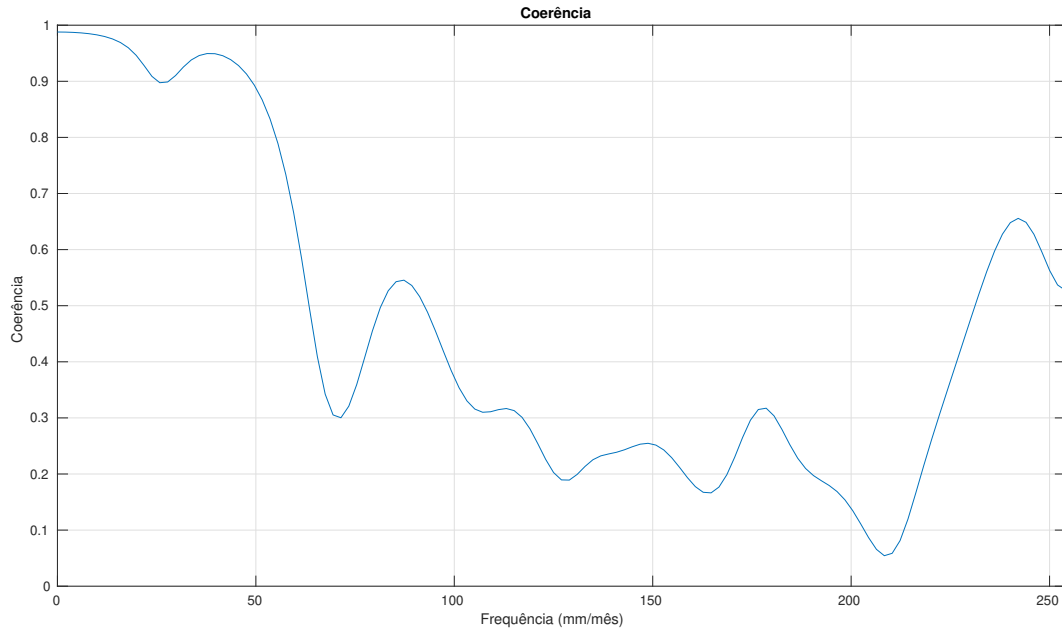


Figura 4.9: Coerência calculada entre os volumes de chuvas mensais dos municípios de Abreu e Lima e Água Preta nos anos de 2010 a 2018.

e S_{YY} . Assim, a coerência é dada por

$$C(f) = \frac{|S_{XY}(f)|^2}{S_{XX}(f)S_{YY}(f)} \quad (4.12)$$

onde f é a frequência específica no intervalo do espectro analisado e N aqui também significa o tamanho dos sinais.

Por fim, também aplicamos a técnica da coerência para os dados da APAC.

Note que, para preservar o ângulo de fase, definimos

$$X(f) = a + ib$$

$$Y(f) = c + id$$

Assim, o espectro de potência tem valores reais, mas o espectro de potência cruzado tem valores complexos. Da mesma forma como na equação (4.4), multiplicamos as equações

acima pelos seus respectivos complexos conjugados e obtemos

$$S_{XX}(f) = X(f)X^*(f) = (a + ib)(a - ib) = a^2 + b^2 \quad \text{e} \quad (4.13)$$

$$S_{YY}(f) = Y(f)Y^*(f) = (c + id)(c - id) = c^2 + d^2. \quad (4.14)$$

Aplicando também para o espectro de potência cruzado, ficamos com

$$S_{XY}(f) = X(f)Y^*(f) = (ac + bd) - i(ad - bc). \quad (4.15)$$

Como o espectro de potência cruzado é um número complexo, o quadrado da magnitude é a soma dos quadrados das partes real e imaginária. Sendo assim, aplicando na expressão para C (4.12) para um único termo em cada sinal, ou seja, com $N = 1$, fica

$$C(f) = \frac{a^2c^2 + b^2d^2 + a^2d^2 + b^2c^2}{(a^2 + b^2)(c^2 + d^2)} = 1 \quad (4.16)$$

4.4 Causalidade de Granger

Inicialmente utilizada em econometria, a causalidade de Granger [43] é, de uma maneira geral, uma técnica para obter relações entre séries temporais, funcionando como um modelo preditivo de causalidade. Sendo assim, passou a ser utilizada em séries temporais neurais [44], genômicas [45] e em outras áreas.

Suponhamos duas séries temporais estacionárias X_t e Y_t . Dizemos que Y_t está G-causando X_t se nós somos mais capazes de prever X_t usando o passado de ambas do que se apenas o passado do próprio X_t tivesse sido usado, ou seja, o presente de Y_t contém informações sobre o futuro de X_t além das informações que podem ser extraídas do próprio X_t . A maioria das abordagens da causalidade de Granger utiliza o modelo de vetor auto regressivo (*vector autoregressive model* - VAR) (Tank et al., 2017), que é o modelo implementado no *software* que foi utilizada neste trabalho. Dada uma série multivariada $\mathbf{u}_1, \mathbf{u}_2, \dots, \mathbf{u}_m$, onde cada tempo t em \mathbf{u}_t é um vetor coluna que compõe uma matriz representando uma série

temporal com componentes $u_{1t}, u_{2t}, \dots, u_{nt}$, considerado como uma realização de tamanho m de um processo estocástico discretizado no tempo \mathbf{U}_t . Sendo assim, o modelo de vetor autoregressivo de p -ésima ordem - VAR(p) [46] - é dado por

$$\mathbf{U}_t = \sum_{k=1}^p A_k \cdot \mathbf{U}_{t-k} + \epsilon_t. \quad (4.17)$$

A matriz quadrada de valores reais A_k representa os coeficientes de regressão e o processo estocástico de dimensão n ϵ_t representa os resíduos, que são independentemente e identicamente distribuídos e não correlacionados; ou seja, constituem um processo de ruído branco. A matriz quadrada dada pela matriz de covariância

$$\Sigma \equiv \text{cov} \begin{pmatrix} \epsilon_{x,t} \\ \epsilon_{y,t} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \Sigma_{xx} & \Sigma_{xy} \\ \Sigma_{yx} & \Sigma_{yy} \end{pmatrix}, \quad (4.18)$$

que por ser estacionária, não depende do tempo. Por se tratar de um modelo preditivo (4.17), aborda o valor no tempo atual t em termos de valores passados $t-1, t-2, \dots, t-p$.

Para um processo de VAR, a densidade espectral cruzada admite uma fatorização espectral única

$$S(f) = H(f)\Sigma H(f)^* \quad 0 \leq f \leq 2\pi, \quad (4.19)$$

onde $H(f)$ é a função de transferência definida como a matriz inversa da transformada de Fourier dos coeficientes de regressão

$$H(f) = \left(I - \sum_{k=1}^p A_k e^{-ikf} \right)^{-1}. \quad (4.20)$$

A ferramenta explora alguns aspectos mais avançados da teoria VAR, que não serão abordados neste trabalho por fugirem ao escopo.

A teoria de máxima verossimilhança [47], que consiste na estimação parâmetros de um modelo estatístico, sugere que uma medida comparativa apropriada para os coeficientes de regressão como abordado em Barnett e Seth [46] é a estatística da taxa de verossimilhança, ou seja, seu logaritmo. Assim, a causalidade de Granger de Y para X é definida como

$$\mathcal{F}_{\mathbf{Y} \rightarrow \mathbf{X}} \equiv \ln \frac{|\Sigma'_{xx}|}{|\Sigma_{xx}|}, \quad (4.21)$$

onde $\Sigma_{xx} = \text{cov}(\epsilon_{x,t})$ e $\Sigma'_{xx} = \text{cov}(\epsilon'_{x,t})$ são os resíduos dos modelos de VAR apropriados.

4.4.1 Causalidade de Granger no domínio da frequência

Uma vantagem da causalidade de Granger é que pode ser decomposta no espectro das frequências [48]. Isso se torna bastante útil para a análise de séries temporais neurais, onde apenas determinadas bandas de frequências são de interesse.

Imagine que \mathbf{U} tenha apenas dois processos \mathbf{X} e \mathbf{Y}

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} \mathbf{X} \\ \mathbf{Y} \end{pmatrix}, \quad (4.22)$$

podemos decompor a densidade espectral cruzada em

$$S(f) = \begin{pmatrix} S_{xx}(f) & S_{xy}(f) \\ S_{yx}(f) & S_{yy}(f) \end{pmatrix}, \quad (4.23)$$

onde $S_{xx}(f)$ é a densidade espectral cruzada de um sub processo de \mathbf{X} e com uma decomposição similar para a função de transferência $H(f)$, ficamos com

$$S_{xx}(f) = H_{xx}(f)\Sigma_{xx}H_{xx}(f)^* + 2 \text{Re}\{H_{xx}(f)\Sigma_{xy}H_{xy}(f)^*\} + H_{xy}(f)\Sigma_{yy}H_{xy}(f)^*. \quad (4.24)$$

Seguindo o caso especial abordado por Geweke (1982), em que $\Sigma_{xy} \equiv 0$, que pode ser efetuado por uma transformação linear de variáveis, a equação acima se torna

$$S_{xx}(f) = H_{xx}(f)\Sigma_{xx}H_{xx}(f)^* + H_{xy}(f)\Sigma_{yy}H_{xy}(f)^*, \quad (4.25)$$

restando apenas um termo intrínstico e um termo causal para $S_{xx}(f)$. Dessa forma, a causalidade de Granger (4.21) na formulação espectral de \mathbf{Y} para \mathbf{X} fica

$$f_{\mathbf{Y} \rightarrow \mathbf{X}}(f) \equiv \ln \left(\frac{|S_{xx}(f)|}{|S_{xx}(f) - H_{xy}(f)\Sigma_{yy}H_{xy}(f)^*|} \right) \quad (4.26)$$

Capítulo 5

Resultados e discussão

Neste capítulo vamos explicar sobre os experimentos realizados e os resultados para cada método de análise espectral aplicado.

5.1 Experimento

O objetivo do experimento é obter um protocolo de LTP aplicando uma estimulação elétrica de alta frequência no corpo estriado para controlar as crises convulsivas (através do aumento da plasticidade) e verificar as alterações de comportamento do animal. Neste estudo, focaremos nos potenciais evocados após o protocolo de LTP no bloqueio de crises, bem como a conectividade entre o corpo estriado e a substância negra parte reticulada.

Todo o protocolo de manipulação e implante da matriz de eletrodos foi feito em 8 ratos da linhagem *Long-Evans*, aleatoriamente divididos em dois grupos de 4, uma metade recebeu estimulação elétrica verdadeira (grupo experimental) e a outra metade não recebeu (grupo controle). Todos os animais tiveram epilepsia induzida por microinjeções de pilocarpina. A distribuição da matriz de eletrodos para a captação dos potenciais de campo locais (*local field potential* - LFPs) foi feita da seguinte forma: 8 canais na região da Substância Negra Parte reticulada (SNPr), 4 canais da região do Corpo Estriado (CE) e 16 canais na região do Hipocampo (HIPO). Também houve um implante de um eletrodo no corpo estriado para aplicação do estímulo de alta frequência.

Região	Canais
SNPr	4, 20, 2, 18, 7, 23, 5, 21.
CE	8, 24, 6, 22.
HIPO	15, 31, 13, 29, 11, 27, 9, 25, 16, 32, 14, 30, 12, 28, 10, 26.

Tabela 5.1: Lista de canais da matriz de eletrodos por região

Esses 28 eletrodos, que chamaremos de canais daqui em diante, contém o registro basal dos potenciais de campo locais logo após o protocolo de LTP, feito após 9 dias da cirurgia de implante da matriz. Os dados foram captados a uma taxa de amostragem de 1017 Hz com aproximadamente 1 minuto de registro para cada conjunto.

Apesar da possibilidade de induzir plasticidade através de estimulação elétrica de alta frequência e indução de LTP num circuito neural, bem como a estimulação do circuito estriado-nigral bloqueia crises convulsivas, a hipótese do grupo é que a estimulação elétrica de alta frequência no estriado causará mudanças nos circuitos neurais dos NBs, alterando tanto o comportamento do rato quanto o potencial evocado na via estriado-nigral. A análise comportamental já foi realizada e teve resultados significativos [1].

Nessa análise, fica clara a eficiência do tratamento de controle de crises epiléticas utilizado. A comparação do comportamento dos ratos do grupo controle e experimental são bastante conclusivas que há uma diferença significativa no comportamento nos ratos de grupos diferentes, na figura 5.1 constata-se que a atividade normal do rato do grupo controle é afetada por sua condição não tratada, com poucos movimentos e no comportamento de levantar sobre as patas traseiras (atividade de *rearing*) e sem nenhuma autolimpeza e chacoalhos no corpo (*wet dog shakes*). E na figura 5.2 observamos que o tempo em que os ratos ficaram imóveis foi cerca de 10 vezes menor para o grupo experimental com relação ao grupo controle.

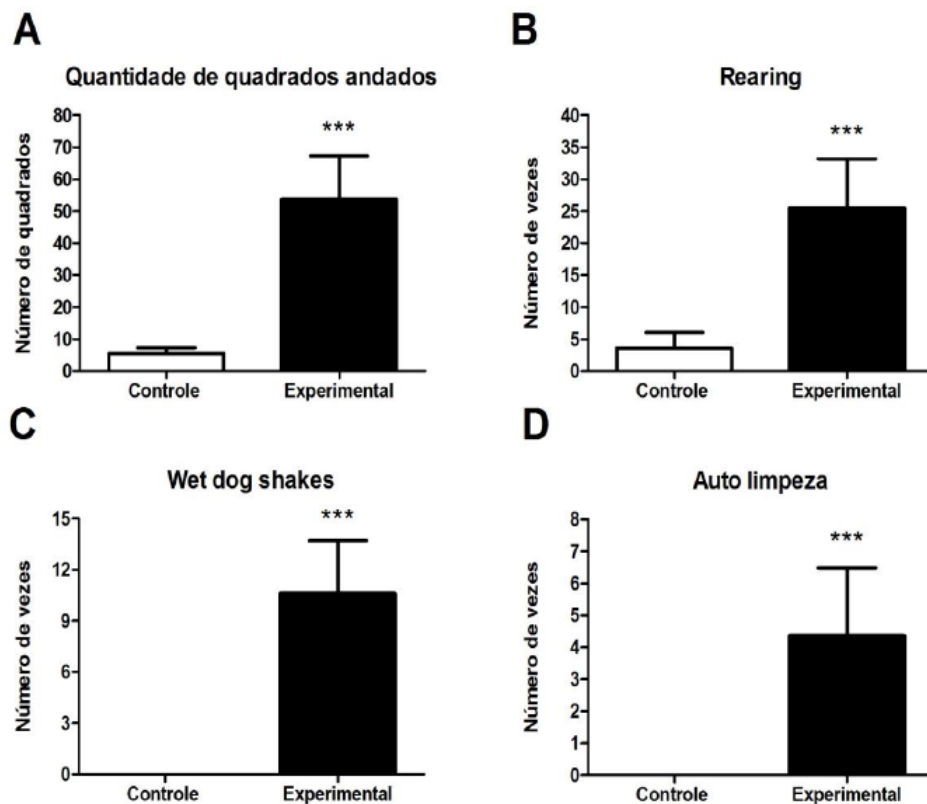


Figura 5.1: Resultados da análise da contagem de quadrados andados, *rearing*, *wet dog shakes* e autolimpeza feita no trabalho de dissertação do Igor Tchaikovsky [1]

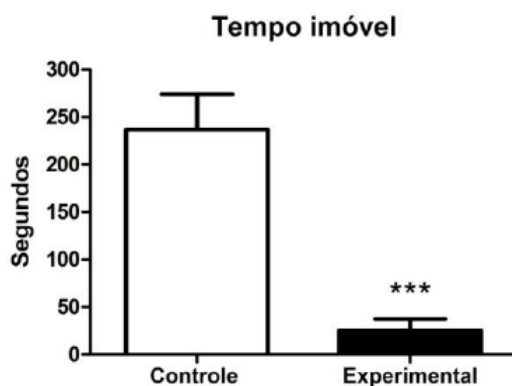


Figura 5.2: Resultados da análise de tempo imóvel feita no trabalho de dissertação do Igor Tchaikovsky [1]

Todos os dados foram coletados pelo estudante de mestrado Igor Tchaikovsky Mello de Oliveira, que realizou todos os experimentos. Para mais detalhes sobre o mesmo, veja [1].

5.2 Análise preliminar dos dados

Dos 8 animais que foram submetidos ao experimento, apenas dois (um de cada grupo) tiveram um sinal eletrofisiológico aproveitado neste trabalho. Muitos desses dados foram comprometidos com ruído no momento da captação. Esse comprometimento no sinal pode ocorrer devido a uma microinflamação na ponta dos eletrodos, aumentando assim sua impedância, ou pelo choque da cabeça do animal com as paredes da gaiola, comprometendo o contato de aterramento do eletrodo.

Todos os nossos resultados adiante são uma comparação de um conjunto de dados de um rato do grupo controle e um do grupo experimental, para os dados experimentais, também fizemos uma análise da densidade do espectro de potência e da causalidade de Granger para analisar a conectividade entre as regiões.

5.2.1 Dados do grupo experimental

Para a escolha do rato do grupo experimental, obtivemos ao menos um conjunto de dados com ausência de ruído, ao aplicar a FFT os dados estavam satisfatórios. Apenas um ruído mínimo em apenas alguns canais, como podemos observar na figura a seguir, podendo prosseguir com a análise. Todos os gráficos tiveram o eixo horizontal fixado no intervalo de 0 a 80 Hz e o eixo vertical, para cada região, teve fixado o intervalo de 0 ao maior valor da região. A fim de observarmos apenas as frequências de interesse, detectando a linha de interferência em 60 Hz e de obter um critério igual para a análise do nível de ruído, respectivamente.

Pudemos observar que praticamente todos os canais deste conjunto de dados estão em condições satisfatórias de serem utilizados, alguns ainda apresentaram uma pequena linha de interferência, porém, como temos várias canais em cada uma das três regiões, podemos utilizar apenas alguns deles e, portanto, demos preferência aos canais com um nível baixo de ruído.

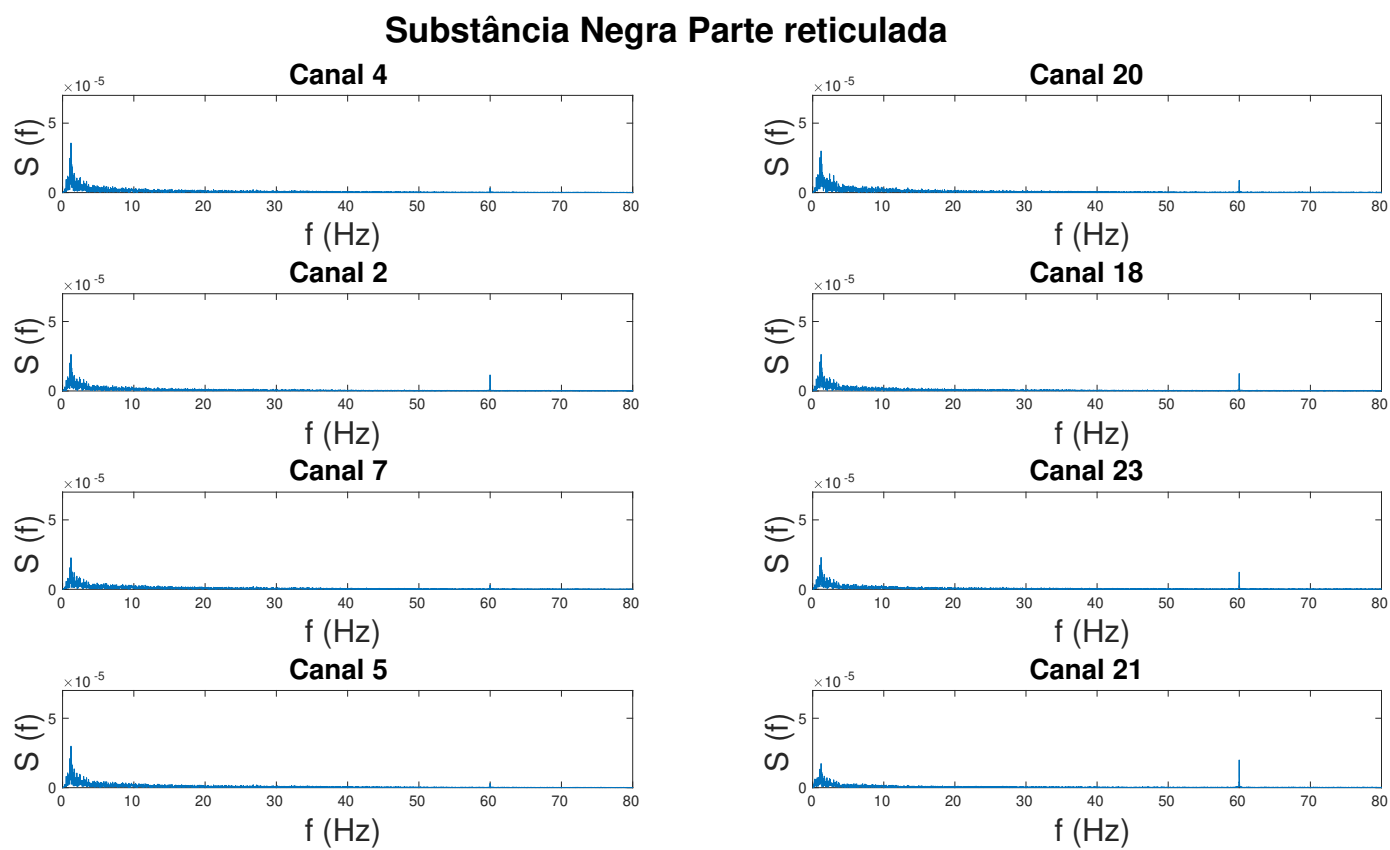


Figura 5.3: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados de um rato do grupo experimental

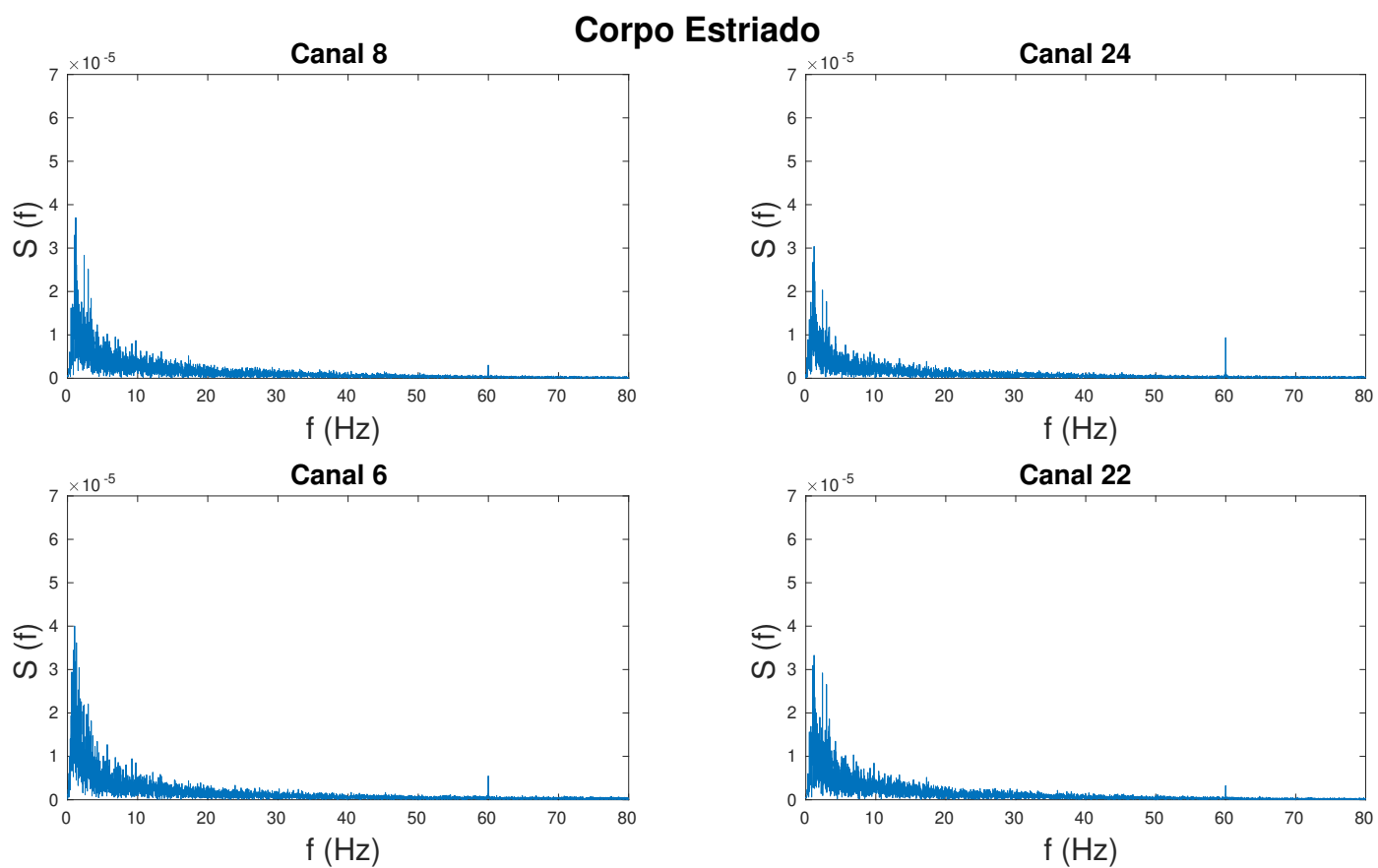


Figura 5.4: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados de um rato do grupo experimental

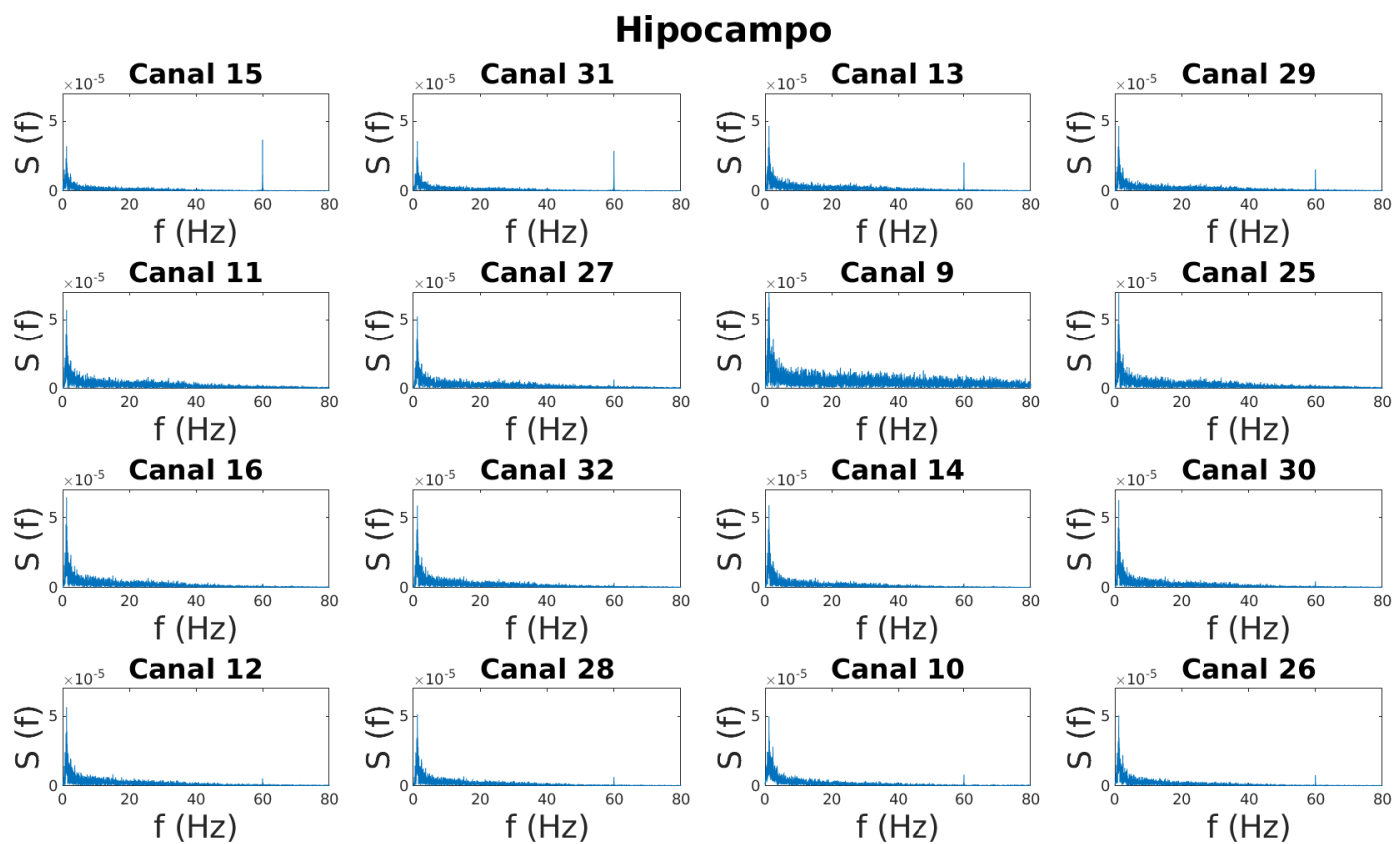


Figura 5.5: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados de um rato do grupo experimental

5.2.2 Dados do grupo controle

Já para a escolha do conjunto de dados de um rato do grupo controle, pudemos observar uma linha de interferência de magnitude elevada em todos os dados, porém, mesmo havendo uma diferença maior entre os picos da linha de interferência e o maior valor do espectro (valores fora da linha de interferência) em alguns canais, há uma densidade de valores significativa nessa última região, indicando que os dados não estão comprometidos o suficiente. Ainda assim, aplicamos o filtro de rejeita faixa para minimizar o ruído. As imagens a seguir (figuras 5.6, 5.7 e 5.8) mostram a linha de interferência em todos os canais de todas as regiões.

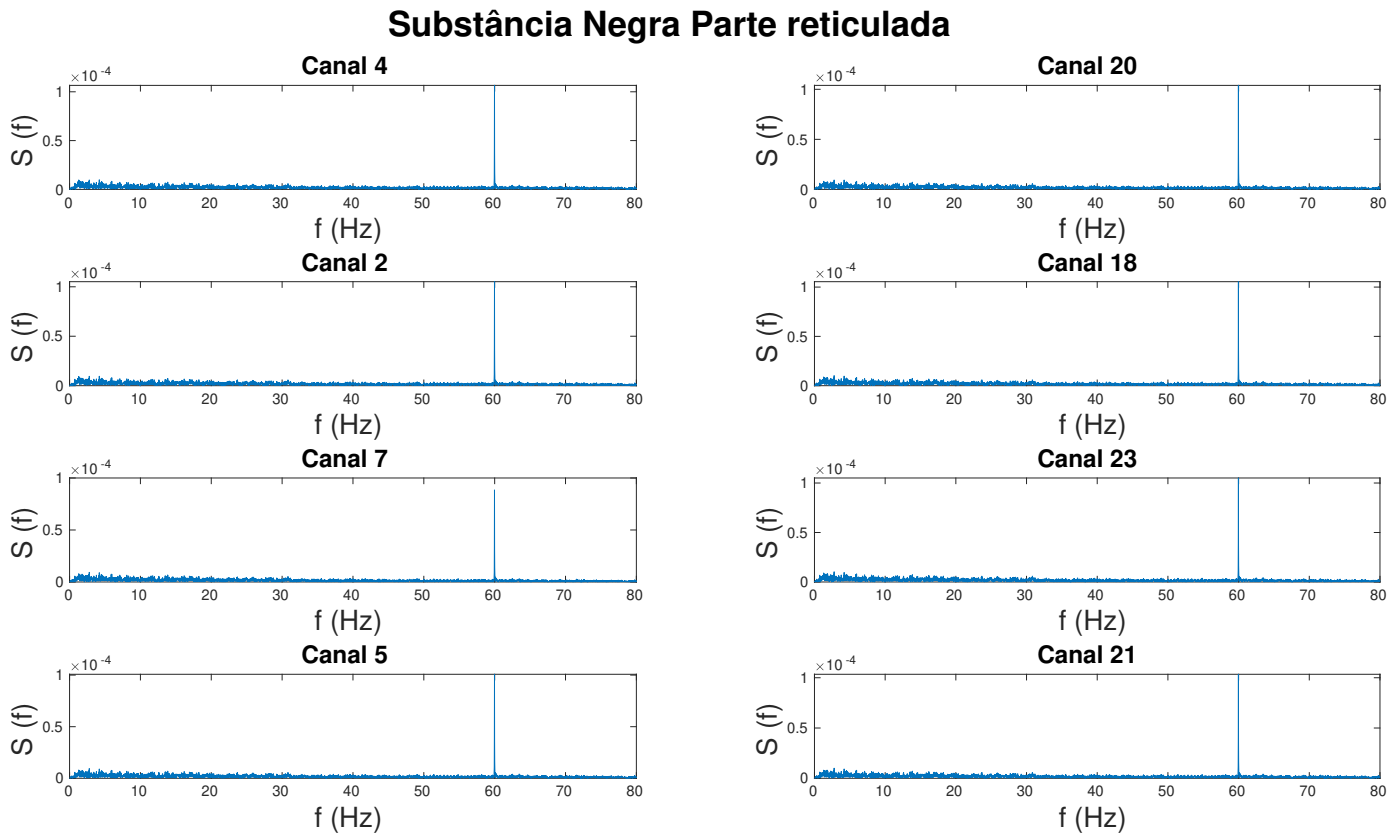


Figura 5.6: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados de um rato do grupo controle

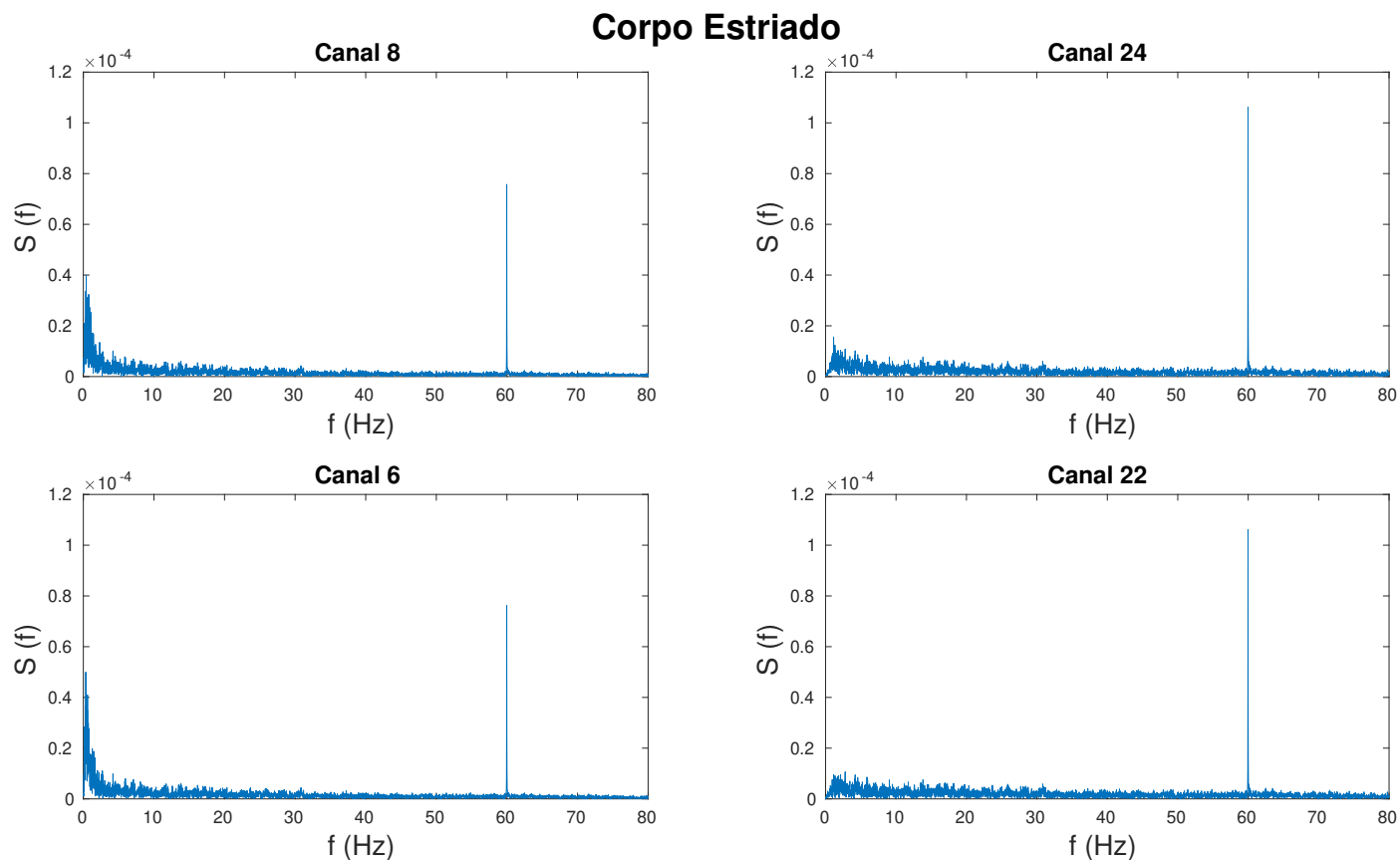


Figura 5.7: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados de um rato do grupo controle

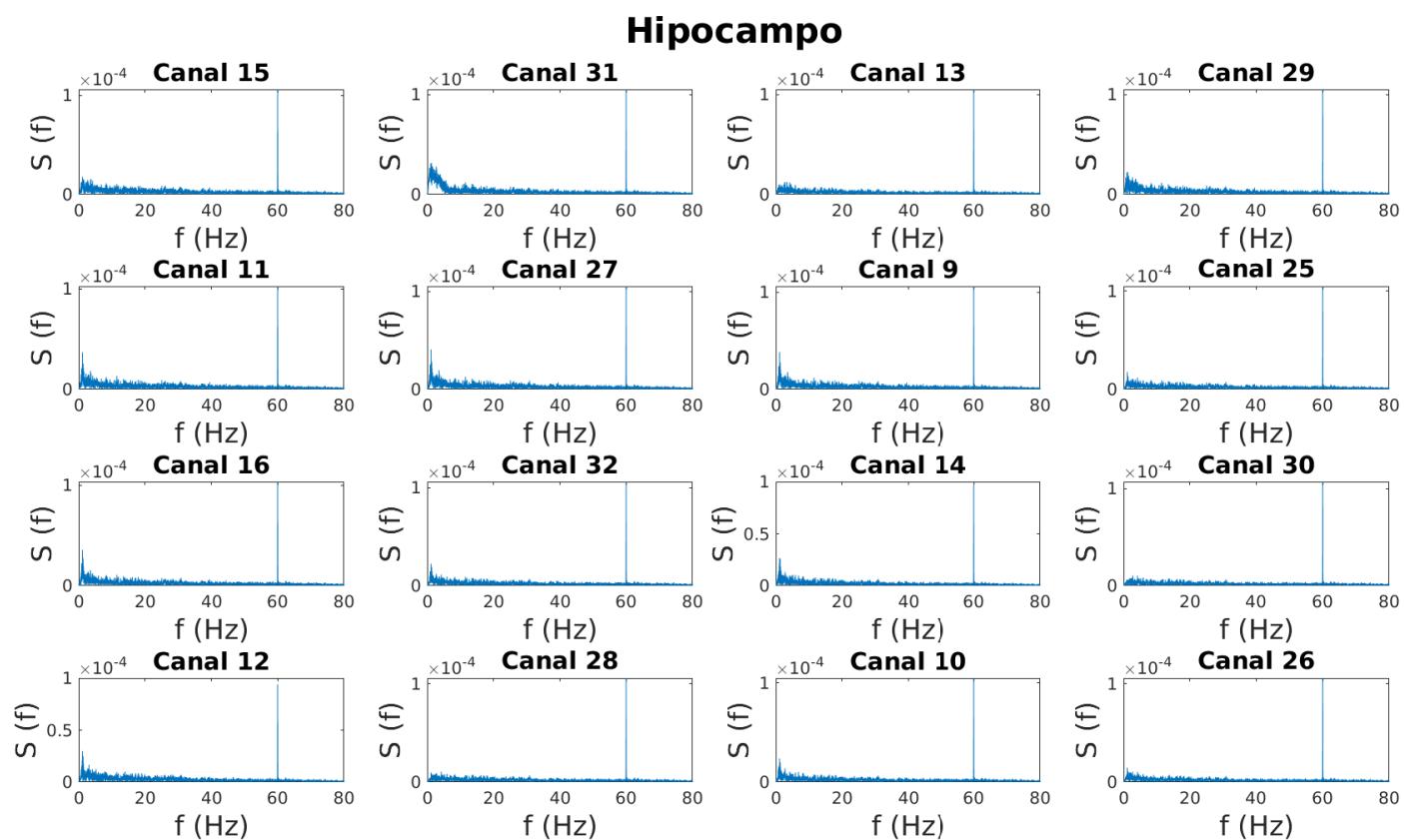


Figura 5.8: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados de um rato do grupo controle

Após aplicar o filtro em todos os canais, ficou mais fácil de observar uma atividade oscilatória mais distribuída do espectro dos potenciais de campo locais captados dos ratos em crise convulsiva e que não receberam o protocolo de tratamento (grupo controle), assim como a exclusão da linha de interferência em 60 Hz.

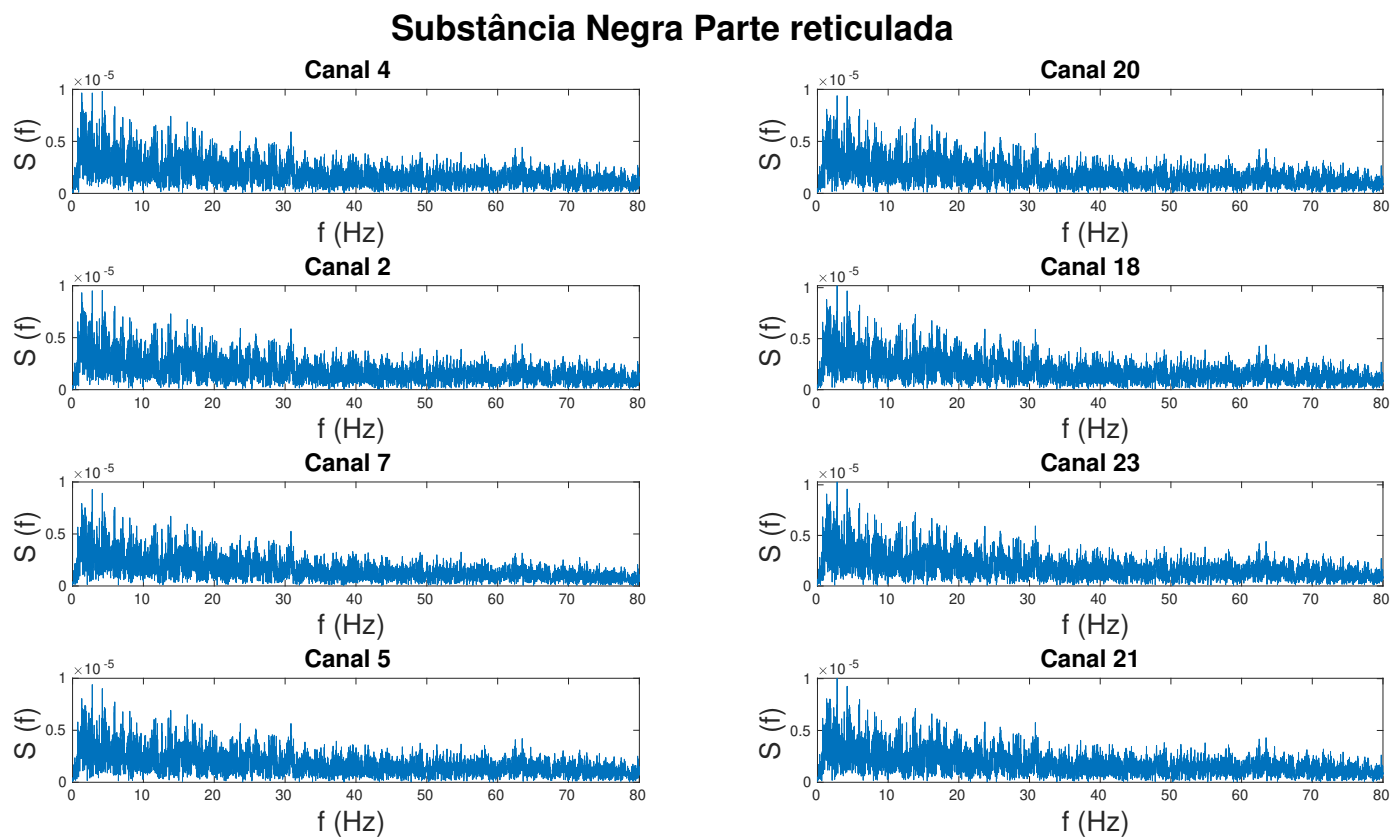


Figura 5.9: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região da substância negra parte reticulada do conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle

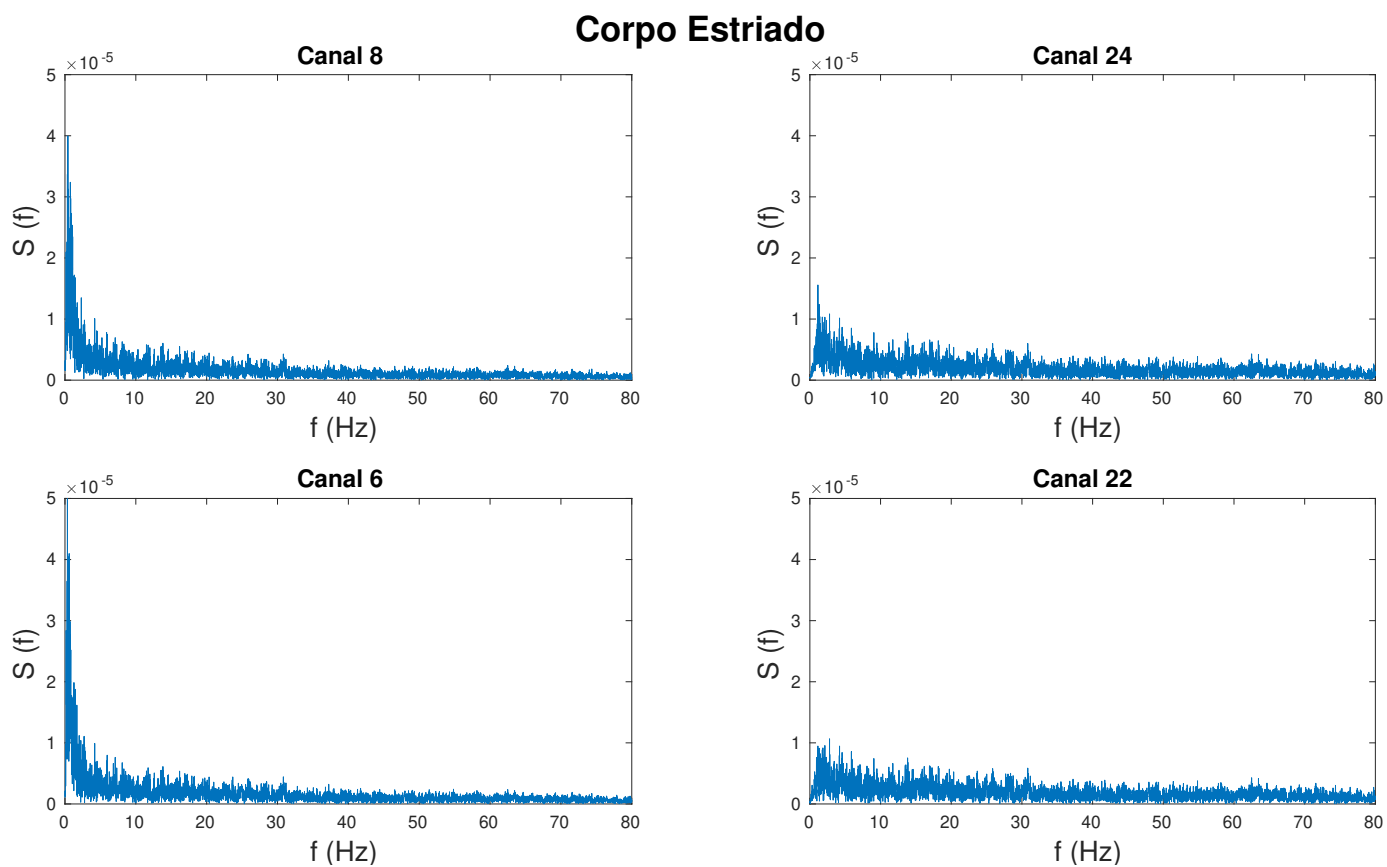


Figura 5.10: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do corpo estriado conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle

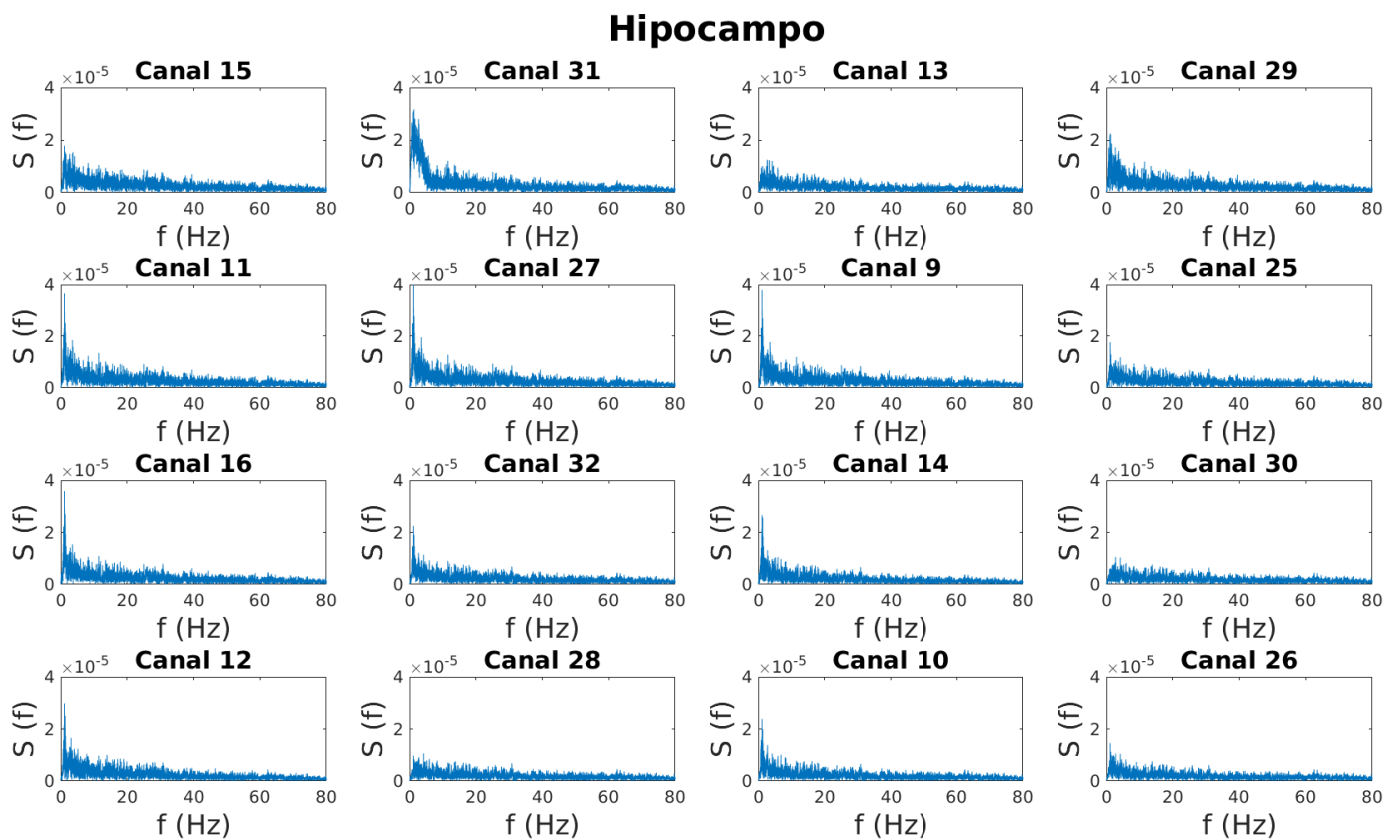


Figura 5.11: Transformada rápida de Fourier aplicada nos canais da região do hipocampo conjunto de dados filtrados de um rato do grupo controle

5.3 Causalidade de Granger

Nessa análise, a disposição dos gráficos foi feita da seguinte forma: na matriz triangular inferior, colocamos os gráficos das causalidades de Granger das três regiões, dois a dois e fizemos o mesmo cálculo para os dados *surrogados*, na matriz triangular superior, colocamos apenas os cálculos com os dados *surrogados*, e por fim, na diagonal principal, colocamos a transformada rápida de Fourier para cada canal, dessa forma, podemos observar um possível comprometimento dos dados por um eventual ruído de forma concomitante.

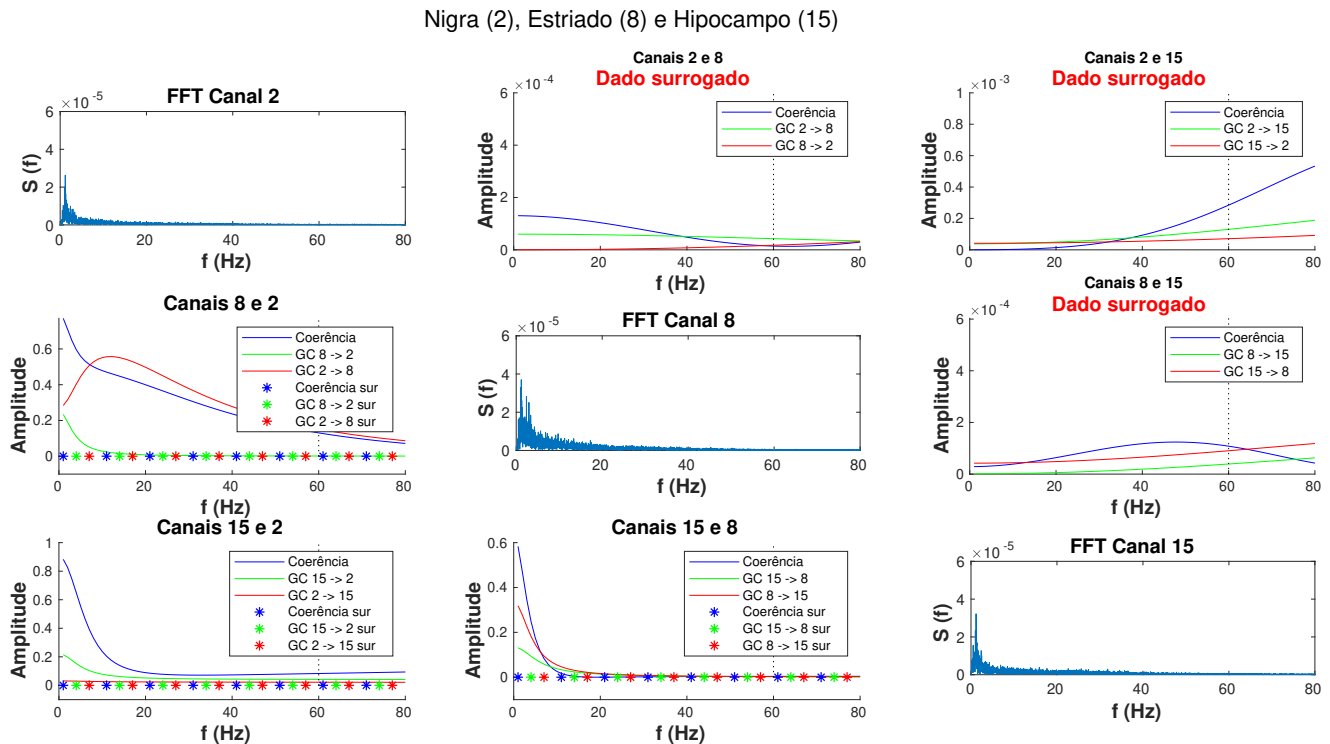


Figura 5.12: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (8) e do HIPO (15), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental

A figura 5.12 é de um rato do grupo experimental e a primeira conclusão que podemos obter dessa sequência de gráficos, é que quando *surrogamos* os dados, a causalidade e a coerência caem drasticamente, independentemente da banda de frequência, na ordem de

10^{-4} , ou seja, 10 mil vezes menor do do que valores encontrados. Essa análise *surrogada* comprova que nossos resultados para a causalidade de Granger e coerência não são apenas um artefato, e sim algo que depende da cronologia da aquisição dos dados, ou seja, das séries temporais.

Quando fazemos a mesma análise para o rato do grupo controle, notamos uma forte e crescente coerência entre os canais, o que era esperado, pois como vimos na figura ??, o LFP registrado de todos os canais de um rato do grupo controle, ou seja, de um rato que foi acometido pela doença e não recebeu o protocolo de tratamento, é bastante sincronizado. Funcionando da mesma forma quando utilizamos os dados *surrogados*, a magnitude da causalidade é da mesma ordem que os dados não *surrogados*.

Nigra (2), Estriado (8) e Hipocampo (15)

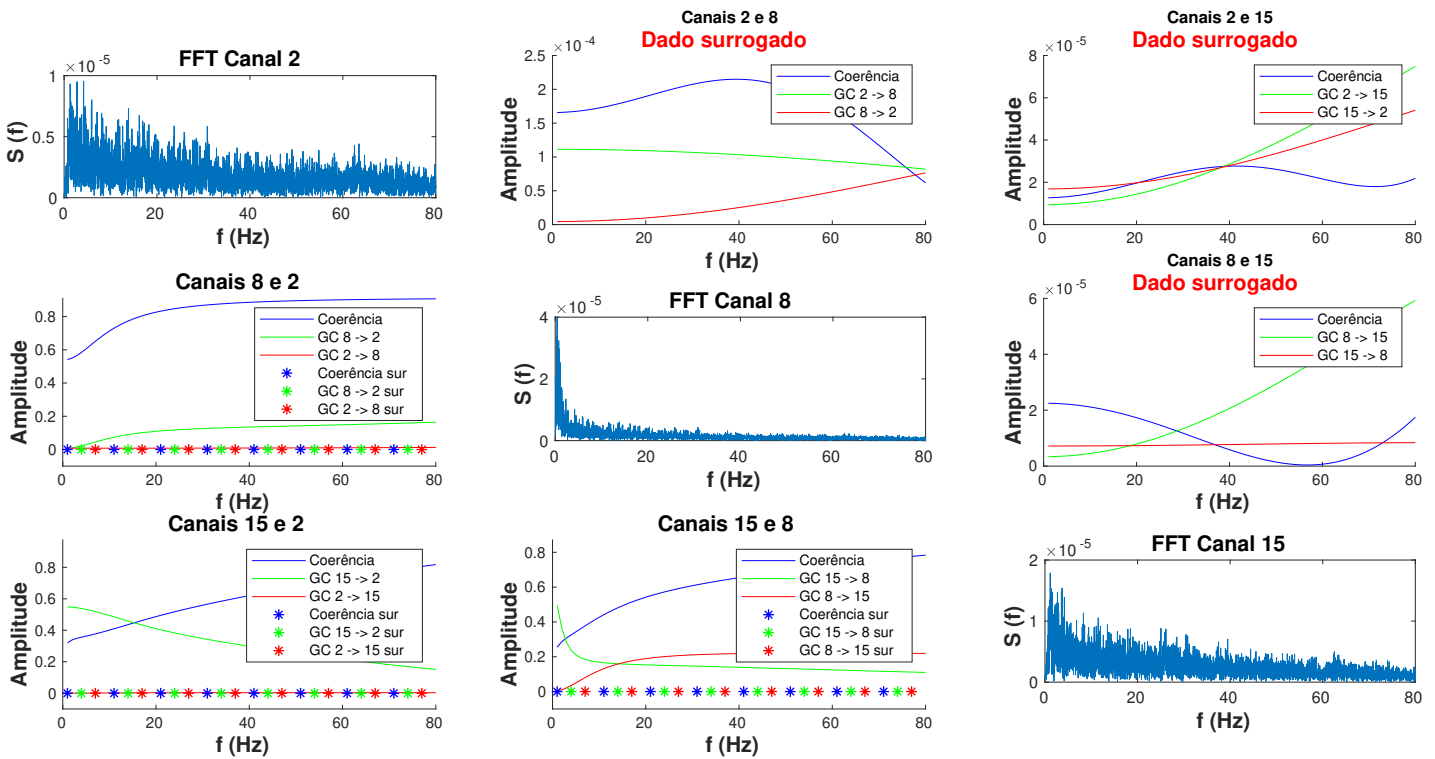


Figura 5.13: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (8) e do HIPO (15), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle

Essas imagens são exemplos da causalidade incondicional calculada par a par entre as regiões do cérebro, com apenas 1 canal por região. A análise dos dados *surrogados* no mesmo gráfico da causalidade deixa bem clara a diferença de magnitude com relação aos dados não *surrogados*, bem como a coerência entre os canais. A seguir, mostraremos mais 2 pares (controle e experimental) desses gráficos para outros canais de cada região.

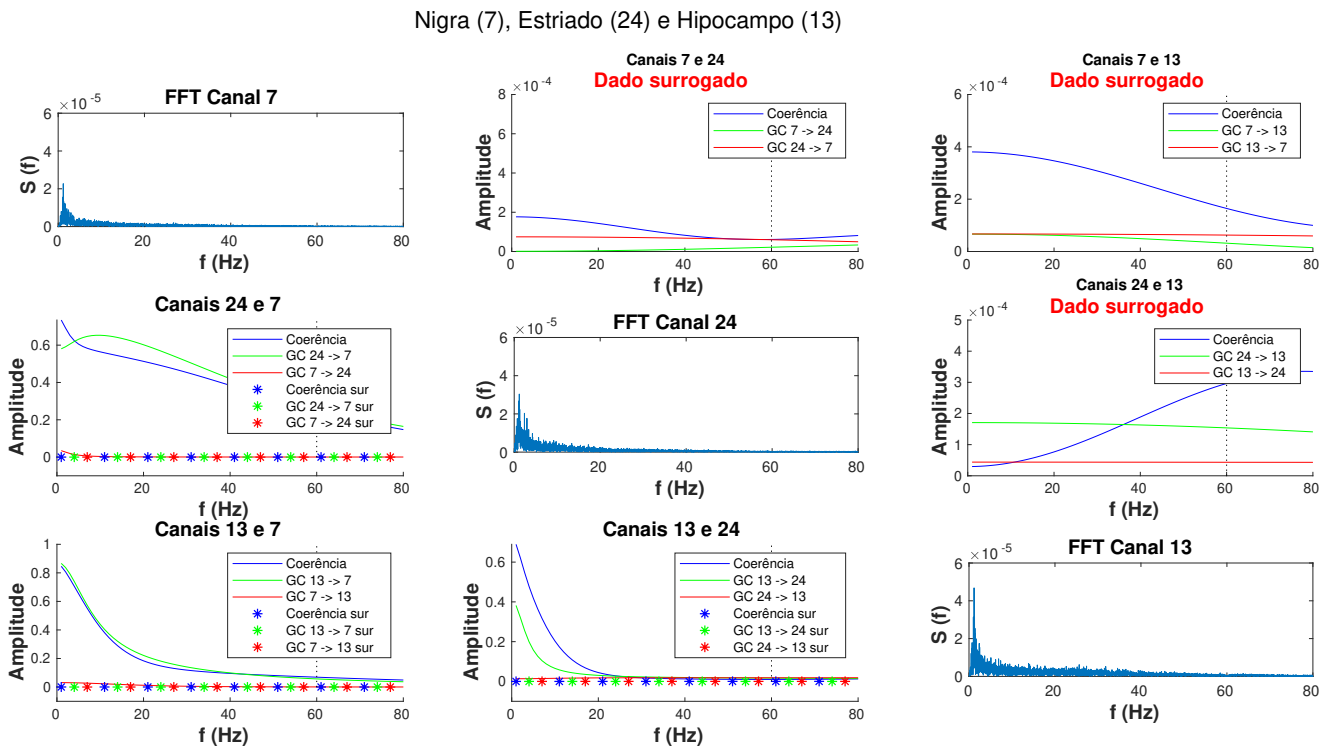


Figura 5.14: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (7), do CE (24) e do HIPO (13), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental

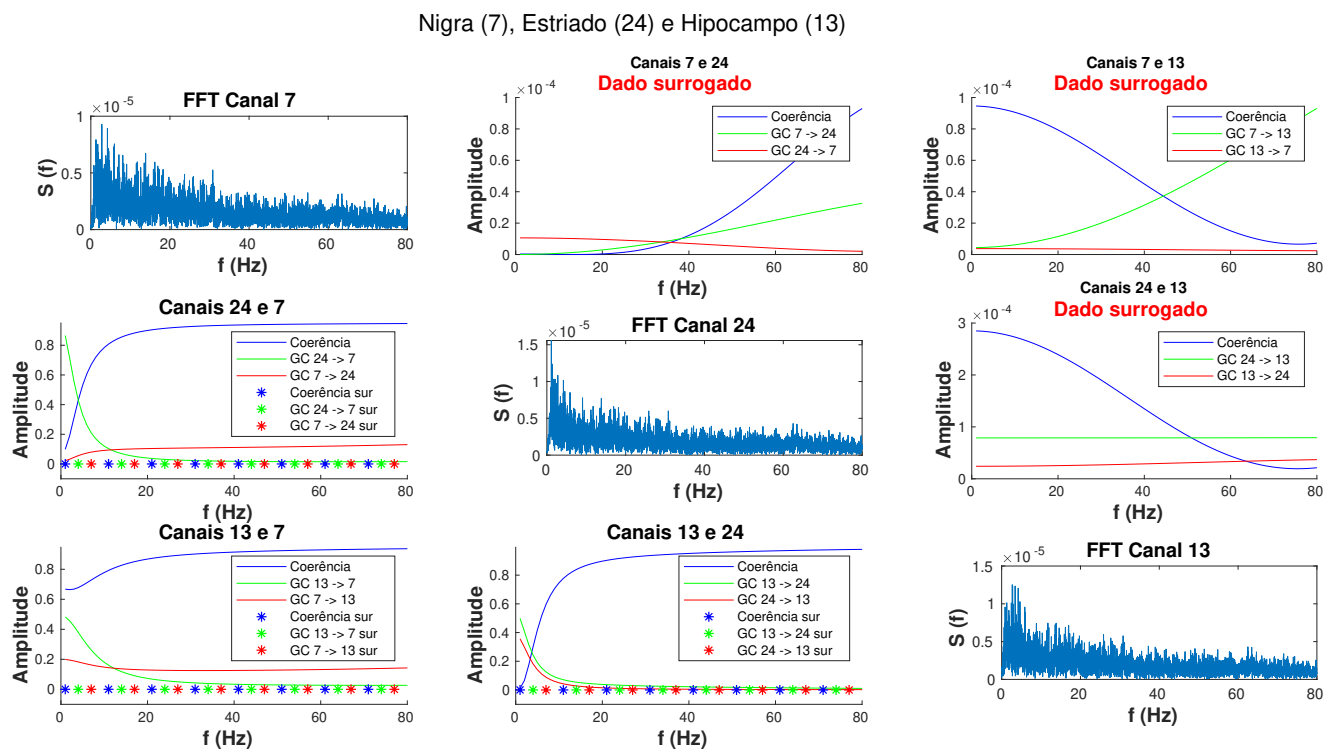


Figura 5.15: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (7), do CE (24) e do HIPO (13), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle

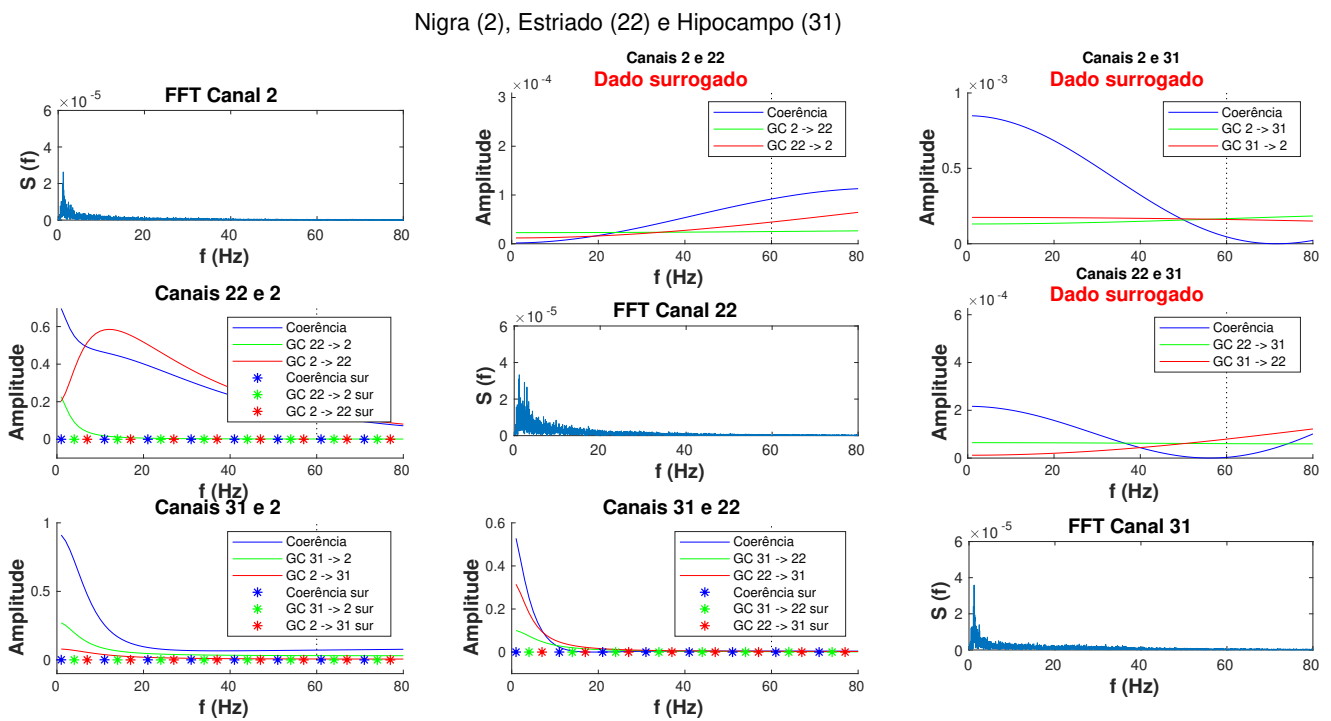


Figura 5.16: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (22) e do HIPO (31), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo experimental

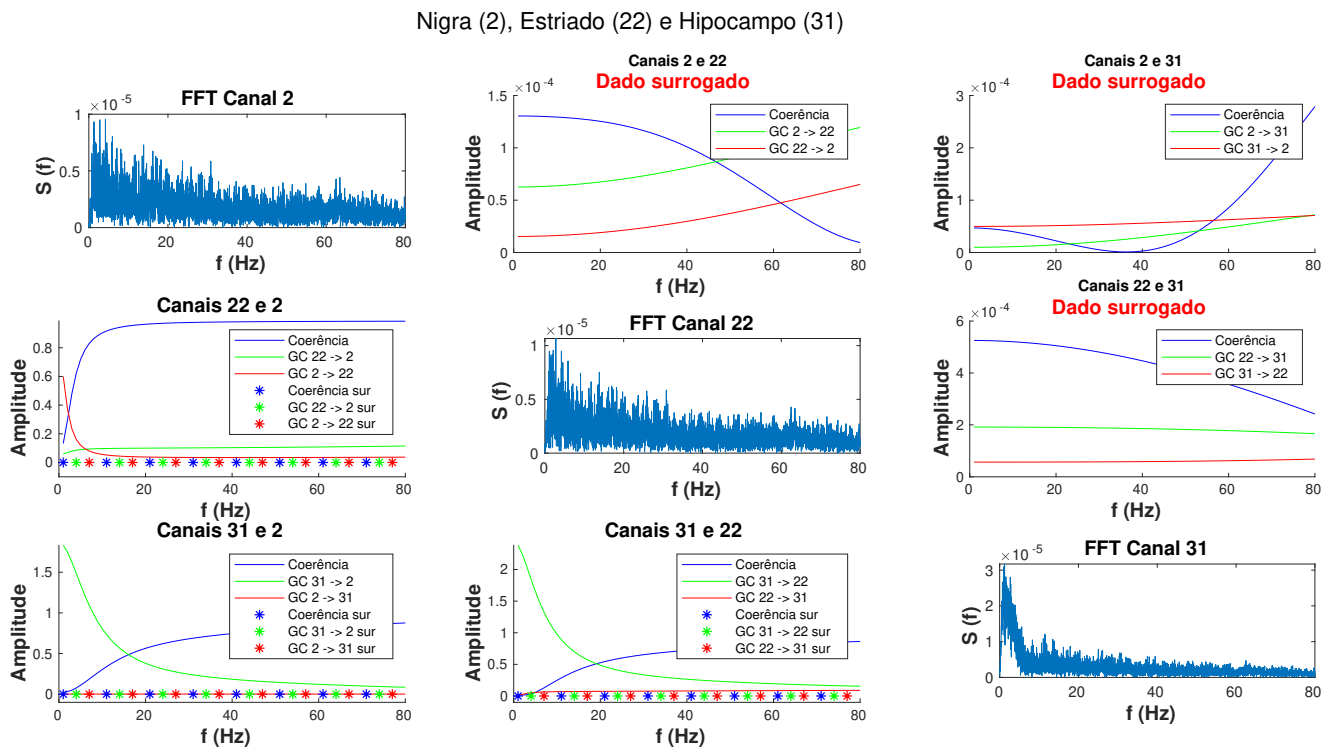


Figura 5.17: Causalidade de Granger entre os canais da SNPr (2), do CE (22) e do HIPO (31), a mesma análise com os dados surrogados e a FFT na diagonal principal para o rato do grupo controle

Capítulo 6

Conclusões e perspectivas

Neste trabalho fizemos uma análise dos dados de um experimento realizado em ratos da linhagem *Long-Evans*, em que foi induzido epilepsia via pilocarpina. No grupo experimental, foi realizado um tratamento via LTP e no grupo controle apenas os procedimentos de cirurgia de implante da matriz de eletrodos que continha 28 canais divididos entre o CE, a SNPr e o HIPO. Fizemos uma triagem dos dados por meio de uma análise espectral, calculando a FFT de todos os canais. Tínhamos um total de 8 conjunto de dados (4 do grupo experimental e 4 do grupo controle), com a análise via FFT, identificamos que muitos dados haviam sido corrompidos com um alto nível de ruído. Mesmo utilizando um filtro de rejeita faixa, só pudemos utilizar 1 conjunto de dados de cada grupo, mas apenas nos dados do grupo controle foi necessário o uso do filtro.

Nosso objetivo era analisar a conectividade neural de um estudo que já havia mostrado resultados comportamentais promissores no tratamento via LTP de ratos em crises epiléticas [1]. Para isso, utilizamos técnicas de análise da conectividade neural, como a coerência e a causalidade de Granger. Utilizamos uma técnica que substitui os dados da série temporal original pelos mesmos dados embaralhados, perdendo a correlação temporal. Isso nos mostrou uma relação significativa da região da SNPr no controle das crises, onde há sempre uma magnitude mais elevada quando os cálculos foram realizados com a mesma. Já quando os dados embaralhados foram utilizados, a coerência e a causalidade de Granger tiveram uma expressiva queda nos valores calculados.

Uma outra técnica interessante que pode ser implementada em trabalhos futuros nesses dados, é a da entropia de transferência [49]. Que é capaz de distinguir efetivamente elementos de condução e resposta e ainda detectar assimetria na interação entre séries temporais.

Capítulo 7

Códigos utilizados

7.1 Código da transformada rápida de Fourier

Código utilizado para gerar a FFT das 3 regiões para o grupo controle com o filtro de rejeita faixa, para o grupo experimental segue o mesmo modelo, porém sem o filtro. Usamos o Matlab R2018a com licença para estudante.

```
data = load('block1_071316.txt');
fs = 1017;
n = length(data);
f = fs*(0:(n/2))/n;

idxes = [4 20 2 18 7 23 5 21];
idxng = [8 24 6 22];
idxhp = [15 31 13 29 11 27 9 25 16 32 14 30 12 28 10 26];

% filtro
d = designfilt('bandstopiir','FilterOrder',2, ...
    'HalfPowerFrequency1',59.8,'HalfPowerFrequency2',60.2, ...
    'DesignMethod','butter','SampleRate',fs);
```

```
L1 = data(idxes , 1:1:n);
L2 = data(idxng , 1:1:n);
L3 = data(idxhp , 1:1:n);

figure(1)
for i = 1:8
    subplot(4,2,i)

    F1 = filtfilt(d,L1(i,:));
    Y1 = fft(F1);

    P2 = abs(Y1/n);
    P1 = P2(1:n/2+1);
    P1(2:end-1) = 2*P1(2:end-1);

    plot(f,P1)
    xlabel('f_(Hz)', 'FontSize',16)
    ylabel('S_(f)', 'FontSize',16)
    title(sprintf('Canal_%d',idxes(i)), 'FontSize',14)
    xlim([0 80])
    %      ylim([0 0.00004])
end

supertitle({'Substancia_Negra_Parte_reticulada'; ''}, 'FontSize',20)
set(gcf, 'Position', get(0, 'Screensize'));
saveas(gcf, 'fft_nigra_con_filtro.eps', 'eps')

figure(2)
for j = 1:4
    subplot(2,2,j)
```

```
F2 = filtfilt(d,L2(j,:));
Y2 = fft(F2);

P4 = abs(Y2/n);
P3 = P4(1:n/2+1);
P3(2:end-1) = 2*P3(2:end-1);

plot(f,P3)
xlabel('f_(Hz)', 'FontSize',16)
ylabel('S_(f)', 'FontSize',16)
title(sprintf('Canal_%d',idxng(j)), 'FontSize',14)
xlim([0 80])
ylim([0 0.00005])
end

supertitle({'Corpo_Estriado'; ''}, 'FontSize',20)
set(gcf, 'Position', get(0, 'Screensize'));
saveas(gcf, 'fft_estriado_con_filtro.eps', 'epsc')

figure(3)
for k = 1:16
    subplot(4,4,k)

    F3 = filtfilt(d,L3(k,:));
    Y3 = fft(F3);

    P6 = abs(Y3/n);
    P5 = P6(1:n/2+1);
    P5(2:end-1) = 2*P5(2:end-1);

    plot(f,P5)
```

```
xlabel('f_(Hz)', 'FontSize', 16)
ylabel('S_(f)', 'FontSize', 16)
title(sprintf('Canal_%d', idxhp(k)), 'FontSize', 14)
xlim([0 80])
ylim([0 0.00004])
end
supertitle({'Hipocampo'; ''}, 'FontSize', 20)
set(gcf, 'Position', get(0, 'Screensize'));
saveas(gcf, 'fft_hipo_con_filtro.eps', 'epsc')
```

7.2 Código da coerência e causalidade de Granger

Código usado para gerar as figuras da coerência e causalidade de Granger por pares de canais simples com os dados originais, *surrogados* e a FFT na diagonal principal. Este foi o específico do grupo controle, o do grupo experimental segue o mesmo modelo, porem sem o filtro de rejeita faixa. Também utilizamos o Matlab R2018a com licença para estudante.

```
data = load('block2_060816.txt');
n = length(data);
fs = 1017;

% filtro
d = designfilt('bandstopiir', 'FilterOrder', 2, ...
    'HalfPowerFrequency1', 59.8, 'HalfPowerFrequency2', 60.2, ...
    'DesignMethod', 'butter', 'SampleRate', fs);

idx1 = [7 24 13];
idx2 = [7 1 1 1 24 1 1 1 13];
L1 = data(idx1, 1:1:n);
L2 = data(idx2, 1:1:n);
```

```
nlags = 5;
freq = 1:1:fs/2+1;
n = length(data);
f = fs*(0:(n/2))/n;

A1 = filtfilt(d,L1(1,:));
A2 = filtfilt(d,L1(2,:));
A3 = filtfilt(d,L1(3,:));

L1 = [A1; A2; A3];
gb = L1;

for i=1:3
    gb(i,:) = cca_detrend(gb(i,:));
end
[gb,M] = cca_rm_temporalmean(gb, flag);
[~,cohe, Fx2y, Fy2x, S, S1, S2] = pwcausalb(gb, 1, ...
    size(L1,2), nlags, fs, freq);
[Gw,COH,pp, waut, cons] = cca_pwcausal(gb, 1, ...
    size(L1,2), nlags, fs, freq, flag);
[Sur] = surrogate_Pedro(data, 1, n);

L3 = L1;
L3 = Sur(idx1, 1:1:length(Sur));
gb3 = L3;

for i=1:3
    gb3(i,:) = cca_detrend(gb3(i,:));
end
```

```
[gb3,M]=cca_rm_temporalmean(gb3,flag);
[~,cohe,Fx2y,Fy2x,S,S1,S2]=pwcausalb(gb3,1,...
    size(L3,2),nlags,fs,freq);
[Gw3,COH3,pp,waut,cons]=cca_pwcausal(gb3,1,...
    size(L3,2),nlags,fs,freq,flag);

close all

figure(1)
for k=1:4:9

    F2 = filtfilt(d,L2(k,:));
    Y = fft(F2);

    P2 = abs(Y/n);
    P1 = P2(1:n/2+1);
    P1(2:end-1) = 2*P1(2:end-1);

    subplot(3,3,k)
    plot(f,P1)
    title(sprintf('FFT_Canal%d',idx2(k)), 'FontSize',12)
    xlim([0 80])
    ylim([0 0.00006])
    xlabel('f_(Hz)', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize',12)
    ylabel('S_(f)', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize',12)
end

count=1;
for i=1:3
    for j=1:3
```

```

    if (i~=j && i>j)
        subplot (3,3,count)
        hold on
        plot(squeeze(COH(i,j,:)), 'b')
        plot(squeeze(Gw(i,j,:)), 'g')
        plot(squeeze(Gw(j,i,:)), 'r')
        plot(squeeze(COH3(i,j,:)), 'b*', ...
            'MarkerIndices', 1:10:length(COH3))
        plot(squeeze(Gw3(i,j,:)), 'g*', ...
            'MarkerIndices', 4:10:length(Gw3))
        plot(squeeze(Gw3(j,i,:)), 'r*', ...
            'MarkerIndices', 7:10:length(Gw3))
        line([60 60],ylim, 'Color', 'k', 'LineStyle', ':')
        title(sprintf('Canais_%d_e_%d', ...
            idx1(i), idx1(j)), 'FontSize', 12)
        legend('Coerencia', sprintf('GC_%d->%d', idx1(i), ...
            idx1(j)), sprintf('GC_%d->%d', idx1(j), idx1(i)), ...
            'Coerencia_sur', sprintf('GC_%d->%d_sur', ...
            idx1(i), idx1(j)), sprintf('GC_%d->%d_sur', ...
            idx1(j), idx1(i)))
        xlim([0 80])
        ylim([-0.1 inf])
        xlabel('f_(Hz)', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize', 12)
        ylabel('Amplitude', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize', 12)
    end
    count=count+1;
end
end

count=1;

```

```

for i=1:3
    for j=1:3
        if (i~=j && i<j)
            subplot (3,3,count)
            hold on
            plot(squeeze(COH3(i,j,:)), 'b')
            plot(squeeze(Gw3(i,j,:)), 'g')
            plot(squeeze(Gw3(j,i,:)), 'r')
            line ([60 60],ylim, 'Color', 'k', 'LineStyle', ':')
            title ({sprintf( 'Canais_%d_e_%d', idx1(i), idx1(j) ); ...
                '\fontsize{12}{\color{red}Dado_surrogado}' })
            legend ( 'Coerencia', sprintf( 'GC_%d->%d', idx1(i), ...
                idx1(j) ), sprintf( 'GC_%d->%d', idx1(j), idx1(i) ))
            xlim ([0 80])
            xlabel ( 'f_(Hz)', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize', 12)
            ylabel ( 'Amplitude', 'FontWeight', 'bold', 'FontSize', 12)
        end
        count=count+1;
    end
end

suptitle (sprintf( 'Nigra_(%d), _Estriado_(%d)_e_Hipocampo_(%d)', ...
    idx1(1), idx1(2), idx1(3)))
set(gcf, 'Position', get(0, 'Screensize'));
saveas(gcf, 'gc_regioes_exp_sur.eps', 'eps')

```


Referências Bibliográficas

- [1] Igor Tchaikovsky Mello de Oliveira. Estimulação elétrica de alta frequência no estriado e seu efeito sobre o comportamento e potencial evocado na via estriado-nigral. Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco, 2017.
- [2] Rogawski M.A. and Porter R.J. Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. *Pharmacological Reviews*, 42, September 1990.
- [3] Kwan P. and M.J. Brodie. Early identification of refractory epilepsy. *The New England Journal of Medicine*, 342:314–319, February 2000.
- [4] Brodie M.J. Road to refractory epilepsy: The Glasgow story. *Epilepsia*, 54:5–8, May 2013.
- [5] Erdogan M.A., Yusuf D., and Erdogan A. Levodropropizine suppresses seizure activity in rats with pentylenetetrazol-induced epilepsy. *Epilepsy Research*, 150:32–37, February 2019.
- [6] Margineanu D.G. Epileptic hypersynchrony revisited. *NeuroReport*, 21:963–967, October 2010.
- [7] Sharma R. and Pachori R.B. Classification of epileptic seizures in EEG signals based on phase space representation of intrinsic mode functions. *Expert Systems with Applications*, 42:1106–1117, February 2015.
- [8] Kaplan D.I., Isom L.L., and Petrou S. Role of sodium channels in epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6:1–17, May 2016.

- [9] Scheffer et al I.E. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia*, 58:512–521, March 2017.
- [10] Stephenson-Jones et al M. A basal ganglia circuit for evaluating action outcomes. *Nature*, 2016.
- [11] Feng Z., Zeng M., Chen X., and Zhang M. Neuronal synapses: microscale signal processing machineries formed by phase separation? *Biochemistry*, April 2018.
- [12] Turrigiano G. Homeostatic Synaptic Plasticity: Local and Global Mechanisms for Stabilizing neuronal Function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4:1–17, January 2012.
- [13] Squire L.R. Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychological Reviews*, 99:195–231, 1992.
- [14] Bliss T.V.P. and G.V. Collingridge. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361:31–39, January 1993.
- [15] Toyoda e L. Faleiros E.A.M., Ferrari e M.S.S. Neural plasticity: Relations with behavior and experimental approaches. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 17:187–194, August 2001.
- [16] Cooke S.F. and Bliss T.V.P. Plasticity in the human central nervous system. *Brain*, 129:1659–1673, July 2006.
- [17] Lopes-Aguiar et al C. Prevention of the ca1-mpfc pre-synaptic plasticity impairments in a post-ictal psychosis model ‘in vivo’. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, 18:45–49, 2012.
- [18] Kozyrev V., Staadt R., Eysel U.T., and Jancke D. Tms-induced neuronal plasticity enables targeted remodeling of visual cortical maps. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, February 2018.
- [19] Fisher et al R.S. Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the international league against epilepsy (ILAE) and the international bureau for epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46:470–472, April 2005.

- [20] Nasehi S. and Pourghassem H. Seizure detection algorithms based on analysis of EEG and ecg signals: a survey. *Neurophysiology*, 44:174–186, June 2012.
- [21] Liu Y., Zhou W., Yuan Q., and Chen S. Automatic seizure detection using wavelet transform and svm in long-term intracranial EEG. *IEEE Transactions of Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 20:749–755, November 2012.
- [22] Giannakakis G., Sakkalis V., PEDIADITIS M., and Tsiknakis M. Methods for seizure detection and prediction: An overview. *Neuromethods*, 91:131–157, August 2014.
- [23] Lasefr Z., Shiva S., Ayyalasomayajula V.N.R., and Elleithy K. Epilepsy seizure detection using EEG signals. pages 162–167, October 2017.
- [24] Miller J.W. The role of mesencephalic and thalamic arousal systems in experimental seizures. *Progress in Neurobiology*, 39:155–178, 1992.
- [25] Habu et al H. Seizures induced by α -guanidinoglutaric acid, a nitric oxide synthase inhibitor, are controlled by L-arginine. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 39:87–95, May 1996.
- [26] Depaulis A., Vergnes M., and Marescaux C. Endogenous control of epilepsy: The nigral inhibitory system. *Progress in Neurobiology*, 42:33–52, 1994.
- [27] Amato G., Sorbera F., Crescimanno G., and La Grutta V. The role of the substantia nigra in the control of amygdaloid paroxysmal activity. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, 89:91–95, September 1981.
- [28] Gale K. and Iadarola M.J. Seizure protection and increased nerve-terminal gaba: Delayed effects of gaba transaminase inhibition. *Science*, 208:288–291, April 1980.
- [29] Albala B.J., Moshé S.L., and Okada R. Kainic-acid-induced seizures: A developmental study. *Developmental Brain Research*, 13:139–148, March 1984.
- [30] Herculano-Houzel S., Messeder D.J., Fonseca-Azevedo K., and Pantoja N.A. When larger brains do not have more neurons: increased numbers of cells are compensated

- by decreased average cell size across mouse individuals. *Frontiers in Neuroanatomy*, 9, June 2015.
- [31] Zilles K. Neuronal plasticity as an adaptive property of the central nervous system. *Annals of Anatomy*, 174:383–391, october 1992.
- [32] de Arcangelis L., Perrone-Capano C., and Herrmann H.J. Self-organized criticality model for brain plasticity. *Physical Review Letters*, 96:028107, January 2006.
- [33] Guedes F.A., Galvis-Alonso O.Y., and Leite J.P. Neuronal plasticity associated with mesial temporal lobe epilepsy: insights from human and animal model studies. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, 12:10–17, March 2006.
- [34] Lomo T. The discovery of long-term potentiation. *Philosophical Transactions B*, 358:617–620, 2003.
- [35] Pereda E., Quiroga R.Q., and Bhattacharya J. Nonlinear multivariate analysis of neurophysiological signals. *Progress in Neurobiology*, 77:1–37, October 2005.
- [36] George Brown Arfken. *Métodos matemáticos para engenharia e física*. Elsevier Editora Ltda., 2006.
- [37] Hewitt E. and Hewitt R.E. The Gibbs-Wilbraham Phenomenon: An Episode in Fourier Analysis. *History of Exact Sciences*, 21:129–160, 1979.
- [38] Mahesh S. Chavan, R. A. Agarwala, and M. D. Uplane. Suppression of noise in the ecg signal using digital iir filter. In *Proceedings of the 8th WSEAS International Conference on Multimedia Systems and Signal Processing*, MUSP’08, pages 335–343, Stevens Point, Wisconsin, USA, 2008. World Scientific and Engineering Academy and Society (WSEAS).
- [39] Cooley J.W. and Tukey J.W. An algorithm for the machine calculation of complex fourier series. *American Mathematical Society*, 19:297–301, April 1965.
- [40] Zahradnik P. and Vlček M. Notch filtering suitable for real time removal of powerline interference. *Radioengineering*, 22:186–193, April 2013.

-
- [41] Aoi M.C., Lapage K.Q., Kramer M.A., and Eden U.T. Rate-adjusted spike–lfp coherence comparisons from spike-train statistics. *Journal of Neuroscience Methods*, 240:141–153, November 2014.
- [42] Wim van Drongelen. *Signal Processing for Neuroscientists*. Academic Press, 2006.
- [43] Granger C.W.J. Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrica*, 37:424–438, August 1969.
- [44] Bressler S.L. and Seth A.K. Wiener–granger causality: A well established methodology. *NeuroImage*, 58:323–329, September 2011.
- [45] Zhang Z.G., Hung Y.S., Chan S.C., Xu W.C., and Hu Y. Modeling and identification of gene regulatory networks: A granger causality approach. *International Conference on Machine Learning and Cybernetics*, pages 3073–3078, July 2010.
- [46] Barnett L. and Seth A.K. The MVGC multivariate granger causality toolbox: A new approach to granger-causal inference. *Journal of Neuroscience Methods*, 223:50–68, February 2014.
- [47] Anthony William Fairbank Edwards. *Likelihood: Expanded Edition*. The Johns Hopkins University Press, 1992.
- [48] Geweke J. Measurement of linear dependence and feedback between multiple time series. *Journal of the American Statistical Association*, 77:304–313, June 1982.
- [49] Scheiber T. Measuring information transfer. *Physical Review Letters*, 85:461–464, July 2000.