UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA TEÓRICA

Nataly Horner Hoe de Castro

Multifractalidade no Código Neural da Mosca

São Carlos, SP
Setembro de 2008

Nataly Horner Hoe de Castro

Multifractalidade no Código Neural da Mosca

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Física Básica.
Orientador: Prof. Dr. Roland Köberle

São Carlos, SP

Setembro de 2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação IFSC/USP

Castro, Nataly Horner Hoe de.

Multifractalidade no código neural da mosca./ Nataly Horner Hoe de Castro; orientador Roland Koberle.-- São Carlos, 2008.
72p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Área de concentração: Física Básica) – Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

1. Neurobiofísica. 2. Sistemas complexos. 3. Sistema visual da mosca. 4. Multifractalidade. 5. H1. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nataly Horner Hoe de Castro

Dissertação apresentada ao Instituto de Física
de São Carlos da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de Concentração: Física Básica.

Aprovada em: 5/11/2008

Comissão Julgadora

Prof. Dr. Roland Köberle

Instituição: IFSC - USP

Assinatura

Prof. Dr. Antonio Carlos Roque da Silva Filho

Instituição: FFCLRP - USP

Assinatura

Prof. Dr. Leonardo Paulo Maia

Instituição: IFSC - USP

Assinatura

*À minha avó,
Petrina Gomes de Freitas Castro (1916 – 2008)*

Agradecimentos

À todos aqueles que contribuíram direta e indiretamente ao longo desse mestrado: minha eterna gratidão. Esse trabalho é o resultado das discussões, idéias, suporte, apoio, amizade e amor de todos vocês.

Pelo suporte financeiro que sustentaram esses anos de pesquisa: meus agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e aos meus pais.

Resumo

HORNER, N. **Multifractalidade no Código Neural da Mosca**. 2008. 72p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

Como a informação sobre o ambiente natural é codificada na atividade neural do cérebro? Existe de fato um código neural que impera ao longo de todo processamento neural? Essas são algumas das grandes perguntas da Neurociência da atualidade. Assumindo que estratégias bem sucedidas são preservadas e reaproveitadas através da Evolução, buscamos explorar essas questões ao analisar a resposta extracelular do neurônio H1 do sistema visual da mosca a estímulos visuais com distribuições estatísticas de velocidades horizontais bem definidas. Utilizando uma abordagem de Sistemas Complexos, a análise de multifractalidade do código neural do H1 lança algumas luzes sobre uma estratégia de codificação fascinante, sustentando a idéia de que esse neurônio é capaz de “falar” diferentes “linguagens”, se ajustando de forma extremamente dinâmica e flexível à complexidade do estímulo visual (1), visando uma transmissão ótima de informação (2).

Palavras-chave: neurobiofísica, sistemas complexos, sistema visual da mosca, H1, multifractalidade

Abstract

HORNER, N. **Multifractality in Neural Code of the Blowfly**. 2008. 72p. Masters Degree Dissertation – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

How is information about the natural environment coded in the brain neural activity? Is there really a neural code that reigns throughout the neural processing? These are some of the greatest questions of today's Neuroscience. Assuming that well succeeded strategies are preserved and reused through Evolution, we seek to explore these questions by analyzing the extracellular response of the blowfly visual system H1 neuron to certain visual stimuli with well known statistical distributions of horizontal velocities. Using a Complex Systems approach, the multifractality analysis of H1's neural code casts highlights in its fascinating coding strategy, supporting the idea that this neuron is capable of "speaking" different "languages" by adjusting itself to the complexity in visual stimuli in a very dynamical and flexible way (1), aiming at a optimal information transmission (2).

Keywords: neurobiophysics, complex systems, fly's visual system, H1, multifractality

Lista de Figuras

Figura 1 – Sistemas Complexos	15
Figura 2 – Gravura de Robert Hooke, publicada em 1665	19
Figura 3 – Projeção dos eixos ópticos na retina, lâmina e medula.	21
Figura 4 – Organização básica do sistema visual da mosca	22
Figura 5 – Organização neuronal na lóbula e na placa lobular	24
Figura 6 – Sensitividade binocular dos H1s	26
Figura 7 – Diagramas em blocos do sistema de instrumentação	28
Figura 8 – As cinco principais etapas na aquisição do sinal	30
Figura 9 – Posicionamento ideal do micro-eletrodo extracelular	31
Figura 10 – Mosca imobilizada para o experimento.	34
Figura 11 – Cabeça da mosca exposta	35
Figura 12 – Inserção do micro-eletrodo extracelular no cérebro da mosca	36
Figura 13 – Tela do osciloscópio: sinal discriminado e sinal captado.	36
Figura 14 – Mosca posicionada para o início das aquisições	37
Figura 15 – Processo Binomial Multiplicativo.	39
Figura 16 – Processo Binomial Multiplicativo com $p = 0.25$, 10 iterações.	39
Figura 17 – Espectro Multifractal para Processo Binomial Multiplicativo	41
Figura 18 – $D(q) \times q$ para Processo Binomial Multiplicativo.	43

Figura 19 – Transformada de Legendre	45
Figura 20 – Correspondências $\{\tau(q), q\}$ vs. $\{f(\alpha), \alpha\}$	45
Figura 21 – $\tau(q) \times q$	45
Figura 22 – Histograma típico de intervalos entre disparos	48
Figura 23 – Codificação dos intervalos para $N = 4$	49
Figura 24 – Entropia do Ruído vs. Entropia Total	50
Figura 25 – Exemplo de cálculo de divisores	50
Figura 26 – Exemplo de cálculo de divisores - zoom	51
Figura 27 – Mapeamento das palavras $\mathcal{W}_i$ no espaço $\mathcal{C}(\mathcal{W})$	52
Figura 28 – Curvas $\ln(\sum p_i^q)/(1 - q) \times L$	53
Figura 29 – Linearização para Fig. 28	53
Figura 30 – Exemplo de $D_q \times q$ experimental	54
Figura 31 – Exemplo de espectro multifractal $f(\alpha) \times \alpha$ experimental	54
Figura 32 – Análise de multifractalidade para M6	59
Figura 33 – Análise de multifractalidade para M12	59
Figura 34 – Tabela de divisores - E_1	60
Figura 35 – Espectro multifractal $aM13, N = 4$	62
Figura 36 – Espectro multifractal $aM13, N = 8$	62
Figura 37 – Tabela com Divisores para Aquisições aM13 e bM13.	63
Figura 38 – Gráfico das posições de α_{min} para $aM13, N = 2$	64
Figura 39 – Gráfico das posições de α_{min} para $aM13, N = 4$	64
Figura 40 – Gráfico das posições de α_{min} para $aM13, N = 8$	65
Figura 41 – Gráfico das posições de α_{min} para $aM13, N = 16$	65

Sumário

1	Introdução	13
1.1	Sistemas Complexos	14
1.2	O Sistema Visual da Mosca	17
2	Metodologia	27
2.1	Aspectos Experimentais	27
2.1.1	O Aparato Experimental	27
2.1.2	O Experimento	33
2.2	Aspectos Teóricos	38
2.2.1	Multifractalidade	38
2.2.2	Análise de Dados	46
3	Resultados e Discussão	57
3.1	Sessão de Estímulos E_1	57
3.2	Sessão de Estímulos E_2	61
4	Conclusão	67
	Referências	69

1 *Introdução*

Nos dias de hoje, usufruimos de um avanço tecnológico inédito na história da civilização humana. As descobertas abundantes que toda essa tecnologia propicia à Ciência trazem consigo a sensação paradoxal de que nunca se soube tanto e tão pouco ao mesmo tempo, pois nas últimas décadas as novas ferramentas experimentais e computacionais nos permitiram conhecer com crescente grau de detalhe quão avançada é a engenharia da natureza e os sutis princípios que a regem.

A busca pela compreensão da natureza viva não é recente: podemos datar sua origem desde os primórdios da humanidade. Porém, a combinação de dados experimentais abundantes, grande poder computacional e, especialmente, uma forma holística de se abordar cientificamente os princípios da vida nos leva a viver um momento singular na ciência da atualidade, quando um território fértil e inexplorado parece finalmente estar dentro de nosso alcance.

Uma das grandes fronteiras desse território é a compreensão da Mente Humana: com $\approx 10^{10}$ neurônios interconectados entre si, cada qual com uma capacidade de enviar e receber sinais de outros neurônios por meio de até $\approx 10^5$ sinapses (3), o cérebro humano consiste na mais poderosa e compacta rede de processamento de que temos conhecimento, dedicado em última análise à manutenção da homeostase do organismo, através da detecção e predição de variações no meio ambiente e da regulação interna do organismo diante dessas informações. Em termos comparativos: atualmente, o computador mais poderoso do mundo em operação (Roadrunner/IBM) ocupa uma área de 560 m^2 e é capaz de realizar $\sim 10^{15}$ operações por segundo¹ com uma potência de $\sim 10^6\text{ W}$ (4). O cérebro de uma

¹FLOPS: FLoating-point OPerations Per Second

mosca doméstica apenas em repouso já realiza $\sim 10^{11}$ operações por segundo a uma potência $\sim 10^{-4}$ W (5).

Em última instância, compreender o funcionamento da Mente Humana abre uma Caixa de Pandora que pode trazer desde descobertas cruciais para a Medicina e avanços tecnológicos inimagináveis baseados em estratégias de processamento similares a do cérebro, até respostas a questionamentos ainda considerados metafísicos, tais como a natureza da Consciência e da Subjetividade.

Essa Revolução já começou. Nós, diante deste vislumbrante panorama, iniciamos nossa jornada buscando compreender e caracterizar os princípios de codificação neural na mosca. Em particular, a pesquisa desenvolvida neste mestrado consistiu em aplicar uma ferramenta de estudo de Sistemas Complexos, a medida de multifractalidade, na caracterização da resposta do neurônio H1 do sistema visual da mosca *Chrysomya megacephala* a diferentes estímulos visuais. Através da multifractalidade, investigamos a existência de relações entre a complexidade do estímulo fornecido e a complexidade da resposta neural medida no neurônio. Essa investigação se baseou nas técnicas de análise previamente estabelecidas em Baptista, Grebogi e Köberle(1), aplicadas a um conjunto de dados maior e mais completo.

A pesquisa que desenvolvemos está alicerçada nos dois pilares que apresentaremos a seguir: Sistemas Complexos e o Sistema Visual da Mosca.

1.1 Sistemas Complexos

O estudo de Sistemas Complexos como uma área do conhecimento é relativamente recente. Dada sua vasta abrangência – englobando desde fenômenos físicos estudados há muito tempo a fenômenos econômicos atuais, passando por clima e populações, entre outros – não se pretende dar aqui uma definição precisa de um Sistema Complexo, até porque

atualmente existem diferentes definições e essa é ainda uma discussão em aberto (6). Por Sistemas Complexos compreenderemos aqueles que descrevem fenômenos não-lineares, que exigem uma caracterização essencialmente probabilística e não mais determinística. Além disso, esses sistemas são compostos por muitas partes que interagem entre si conforme uma hierarquia sutil, dando origem à características peculiares, tais como invariâncias de escala, auto-organização e emergência de novos fenômenos e estruturas (7). Sobretudo, o todo não se resume à soma das partes. Por esse motivo, a área de Sistemas Complexos desponta como uma ferramenta promissora na Biologia, que é historicamente carente de abordagens que dêem conta de explicar adequadamente os fenômenos biológicos em toda sua complexidade.

Figura 1: O sistema mais complexo está ilustrado em (b). O sistema de maior entropia, em (c). (6)

Ao longo dos tempos, a abordagem usada na compreensão dos sistemas biológicos se alternou entre duas grandes correntes de pensamento: Fisicalistas vs. Vitalistas. Os Fisicalistas têm suas raízes no pensamento cartesiano, mecanicista e reducionista da Revolução Científica: acreditavam que os sistemas biológicos, tais como máquinas, poderiam ser entendidos através da compreensão individual de cada uma de suas partes. Esse tipo de abordagem frustra qualquer compreensão dos fenômenos emergentes, que aparecem com frequência nesse tipo de sistema. Tendo em vista essas lacunas da abordagem fisicalista, os Vitalistas surgem no século XVII como um contramovimento que reconhecia a importância de resultados não intuitivos para a visão fisicalista e sua limitada compreensão dos processos biológicos. Entretanto, para explicar esses fenômenos os Vitalistas frequentemente acabavam invocando forças vitais ou teleológicas que comprometiam suas

argumentações científicas. Ainda assim, surpreendentemente foi a corrente que predominou entre biólogos dos séculos XVII e XVIII, levando-os até mesmo a inicialmente se oporem a Darwin e sua Teoria de Evolução, que refutava qualquer força vital em favor do mecanismo racional da seleção natural (8).

O século XX trouxe consigo uma maior compreensão dos fenômenos físico-químicos no nível celular e molecular, e se por um lado a crença na existência de alguma substância especial diferente da matéria inanimada foi pouco a pouco minada, por outro lado mostrou também que a compreensão individual das partes dos sistemas biológicos em seus menores detalhes tampouco era capaz de elucidar os grandes enigmas que ainda pairavam sobre a Biologia. Nesse cenário se insere a abordagem por meio de Sistemas Complexos, que abraça o pensamento mecanicista mas recusa o reducionismo, ao reconhecer que as características peculiares dos organismos vivos são atribuídas mais à sua organização que a sua composição – constatação essa que se aplica também para vários sistemas inanimados.

Esse breve relato histórico nos serve principalmente como um importante alerta no que diz respeito à forma como olhamos para os sistemas biológicos: é fundamental tomar uma cautela extra contra as armadilhas preparadas por pré-conceitos de uma bagagem originalmente física e ingênua em assuntos biológicos.

Uma das dificuldades na abordagem de sistemas complexos está em discernir se a resposta que o sistema nos fornece experimentalmente é relevante ou não. Como distinguir se elementos de uma resposta sem um padrão claro e reproduzível são devidos a erros experimentais, ruídos etc – que serão de alguma forma filtrados pelo sistema estudado – ou se podem ser atribuídos à complexidade do processo em si, sendo de fato relevantes para processamentos posteriores no organismo e para a compreensão do sistema? E sendo relevantes, como comparar as diferentes respostas entre si, em termos de sua relevância para o sistema? Uma das formas de abordar tal problema seria verificar se sua resposta possui estruturas dotadas de alguma complexidade. Isso fica bem exemplificado na Fig. 1, onde podemos perceber de forma bastante intuitiva que o sistema de maior complexidade não é o de maior aleatoriedade, mas sim, aquele cuja estrutura é a mais rica.

Nesse contexto, a medida da multifractalidade no código neural revela-se pertinente, por ser capaz de evidenciar o grau de estruturação existente na resposta do neurônio e por nos permitir compará-lo em diferentes situações experimentais. Adicionalmente, o conhecimento da estrutura multifractal do sistema auxiliaria na delimitação dos regimes dinâmicos numa modelagem teórica do sistema (9).

1.2 O Sistema Visual da Mosca

Num meio extremamente variável como o Planeta Terra, em permanentes mudanças de temperatura, umidade, luminosidade e tantas outras variáveis físico-químicas, não é surpreendente observar que a *detecção de variações* no meio foi uma das formas mais primitivas de inteligência desenvolvida ainda em organismos unicelulares visando sua preservação – variações essas que poderiam tanto ameaçar quanto beneficiar sua sobrevivência. Podemos citar a bactéria *Escherichia coli*, dotada de mais de uma dúzia de diferentes tipos de receptores químicos em sua membrana celular (10). Esses receptores são capazes de detectar *gradientes* de diferentes nutrientes bem como de toxinas, e através dessa resposta, a bactéria é capaz de alterar a direção de seu deslocamento através de seus flagelos – em busca dos nutrientes ou em fuga das toxinas. Outro exemplo, mais relacionado à Visão, pode ser encontrado em protozoários, muitos dos quais apresentam dispositivos de fotorrecepção capazes de diferenciar intensidades, polarização, direção e faixas de comprimento de onda, que ao longo da evolução foram integrados como unidades de estruturas mais complexas – o olho humano, por exemplo (11).

Dez bilhões de neurônios depois, ainda estamos programados para garantir nossa sobrevivência e todo nosso sistema nervoso pode ser visto como um sofisticado aperfeiçoamento dos princípios observados na simples bactéria: assim como ela, voltado para nos manter constantemente atualizados sobre as variações do meio (ao longo não mais apenas do espaço, como do tempo também, por meio da memória) e guiar respostas ade-

quadas frente ao que se detecta. Se podemos observar os mesmos princípios fundamentais guiando o comportamento da bactéria e o funcionamento do cérebro humano, o que não conseguiremos conhecer sobre nós mesmos se olharmos para seres mais complexos que a bactéria, mas com sistemas nervosos menos intrincados que o nosso? Veremos que já em cérebros muito menos sofisticados como o da mosca ($\approx 10^6$ neurônios), podemos encontrar uma fonte inesgotável de inspiração científica. Mais especificamente, nos focaremos em um dos sistemas sensoriais da mosca: a Visão.

As moscas povoam a Terra há mais de 300 milhões de anos, tendo desde então se ramificado em mais de 125.000 espécies. Isso faz com que as moscas sejam um dos grupos animais mais bem-sucedidos em termos evolutivos no nosso planeta (12). Podemos apontar como uma das chaves desse sucesso evolutivo o rico repertório de comportamentos guiados visualmente e em intervalos de tempo extremamente curtos, como por exemplo durante a perseguição acrobática de uma fêmea, quando um macho consegue alcançar velocidades de giro de até $3.000^\circ s^{-1}$ com um atraso de apenas 30 ms.

Tais comportamentos são facilitados graças a um intrincado sistema de olhos compostos, que é partilhado por 3/4 das espécies animais na face da Terra. Numa mosca, verificam-se cerca de 50.000 células fotorreceptoras distribuídas entre ambos olhos, formando um mosaico retinal (13). A combinação entre essa curiosa arquitetura visual e respostas comportamentais extremamente eficientes sempre suscitou grande fascínio, tanto que a descoberta da natureza multifacetada dos olhos dos insetos deu-se logo após a invenção do microscópio, nos idos de 1600 (14). Um dos mais surpreendentes registros dessa época pode ser encontrado no *Micrographia* (1665) de Robert Hooke (15), com dois capítulos dedicados às suas observações pioneiras no microscópio da cabeça e dos olhos de moscas. Nela, Hooke inclui gravuras desenhadas por ele com alto grau de detalhe a partir de suas observações (Fig. 2), além de enunciar já então algumas das grandes questões acerca dos mecanismos da visão da mosca, as quais seriam laboriosamente destrinchadas pelas gerações vindouras (14).

Nos séculos que se seguiram, os estudos feitos eram focados em sua maioria nos olhos

Figura 2: Secção Horizontal Esquemática da Cabeça da Mosca. Gravura de Robert Hooke, publicada em 1665. "This we may be sure of, that the filaments or sensitive parts of the Retina must be most exceedingly curious and minute, since the whole Picture it self is such; what must needs the component parts be of that Retina, which distinguishes the part of an object's Picture that must be many millions of millions less then that in a man's eye? And how exceeding curious and subtile must the component parts of the medium that conveys light be, when we find the instrument made for its reception or refraction to be so exceedingly small?". *Chapter XXXIX - Of the eyes and head of a grey drone fly, and of several other creatures* (15).

compostos e seus princípios ópticos e em descrições essencialmente anatômicas das estruturas visuais adjacentes. Por volta do começo do século XX, à medida que o funcionamento dos olhos compostos era desvendado como conjuntos sofisticados de lentes cilíndricas, as pesquisas passaram a se aventurar nas estruturas visuais seguintes, não se restringindo mais apenas a observações descritivas mas também explorando essas estruturas num nível funcional, através de experimentos eletrofisiológicos e químicos. Como resultado, nas últimas cinco décadas pudemos observar uma mudança no enfoque das pesquisas dessa área, visando cada vez mais uma compreensão funcional e integrada das estruturas do sistema visual da mosca, onde a codificação e processamento neuronais passam a desempenhar papéis mais centrais na investigação.

Assim, com uma vasta biblioteca de dados disponível sobre o assunto, a mosca tem um dos sistemas visuais mais bem descritos atualmente, porém ainda longe de ser compreendido em sua totalidade. A isso, somam-se também como vantagens no estudo do sistema visual da mosca (13):

- O já mencionado rico repertório de comportamentos estimulados visualmente, que podem ser razoavelmente reproduzidos em laboratório.
- Ao contrário do que ocorre no cérebro humano, um único neurônio pode ser localizado e identificado várias vezes, e em diferentes moscas. Isso permite a aquisição de mais dados sobre um mesmo neurônio, proporcionando uma caracterização quantitativa mais confiável em termos estatísticos.
- A realização de análises celulares e estimulações individuais de células com a mosca *in vivo* através de uma gama variada de técnicas existentes atualmente. Essas aquisições *in vivo* permitem a obtenção de dados mais próximos de sua situação de funcionamento real.
- Esses comportamentos complexos são orquestrados por uma população limitada de algumas centenas de milhares de neurônios. A organização modular desses neurônios em canais paralelos claramente delineados é notável: a retina é constituída por

uma rede geométrica de omatídeos cujo ordenamento impera por quatro camadas sucessivas de neurônios através de projeções ordenadas dos axônios (Fig. 3), por isso denominadas projeções retinotópicas. Assim, cada neurônio pode ser estudado dentro de seu contexto espacial, permitindo em tese a reconstrução das imagens neurais nível a nível do processamento – o que seria impossível num mamífero, por exemplo (16).

- A possibilidade de se usar amplamente a neurogenética como ferramenta auxiliar nesses estudos. A *Drosophila melanogaster*, por exemplo, é um dos modelos mais bem consolidados nos estudos de genética.

Figura 3: Projeções dos eixos ópticos do espaço para os receptores (Re) e a posterior convergência dos axônios nos cartuchos ópticos da lâmina (La) e da medula (Me) (17).

Embora os dois últimos itens não tenham aplicação direta na nossa pesquisa em particular, eles estão fortemente presentes nas pesquisas da área, sendo cruciais para uma compreensão global da visão da mosca.

Na Fig. 4 temos a descrição completa do caminho percorrido pela informação visual captada nos omatídeos, ao longo do qual ela sofre inúmeros processamentos. O destino final de todo o processamento visual será o centro neuromotor da mosca, para onde convergem também as saídas dos demais sistemas sensoriais. Esse conjunto de dados induzirá a resposta motora adequada ao cenário sensorial detectado. As principais estruturas de processamento do sistema visual são (Fig. 4): os olhos compostos com seus fotorreceptores (RE), a lâmina (LA), a medula (ME), a lóbula (LO) e a placa lobular (LP).

Figura 4: Organização básica do sistema visual da mosca. Os dois olhos compostos (RE) estão conectados ao cérebro pelos dois lóbulos ópticos, cada um contendo sucessivos neuropilares visuais (LA: lâmina, ME: medula, LP: placa lobular, LO: lóbula) e dois quiasmas (CHE: quiasma externo, CHI: quiasma interno). Os neuropilares visuais são constituídos por colunas (indicadas por linhas finas) arranjadas retinotopicamente (indicadas pelas setas nos neuropilares do lóbulo óptico do lado direito). O trajeto óptico principal no cérebro e para o gânglio torácico são marcados por setas. Demais abreviações: ADMN, PDMN: Nervo metatorácico dorsal anterior e posterior; CC: conexão cervical; COM: comissura central; FOC: foco óptico anterior e posterior; POT: trato óptico posterior; PR, MS, MT: neurômeros pro-, meso- e metatorácico do gânglio torácico (18).

Cada omatídeo da mosca é dotado de oito células fotorreceptoras, denominadas R1-8. As células R1-6 de um mesmo omatídeo possuem diferentes alinhamentos ópticos; isso permitirá que a luz que sai de um ponto espacial incida de forma que as células fotorreceptoras R1-6 dos omatídeos vizinhos recebam a luz do mesmo ponto do espaço que os fotorreceptores R7-8 do omatídeo central recebem (Fig. 3). Os fotorreceptores contêm organelas pigmentadas responsáveis pela captação da luz incidente e sua conversão em sinal elétrico por meio de reações químicas. Esse sinal elétrico será propagado pelos axônios de seu respectivo fotorreceptor. Os axônios dos receptores R1-6 de cada omatídeo terminarão em seis cartuchos distintos da lâmina, cada um correspondente a amostragem de um ponto diferente do espaço (13). Assim, já observamos na lâmina um mapeamento retinotópico do estímulo visual ao longo de seus cartuchos.

Na lâmina ocorrem pré-processamentos paralelos da informação visual em unidades espaciais (16). Antes da informação ser propriamente processada e decomposta em elementos relevantes, ela é codificada em canais paralelos a fim de fornecer um sinal suficientemente robusto capaz de ser interpretado adequadamente ao alcançar os níveis mais superiores de processamento. Podemos dizer então que a lâmina atua no empacotamento da informação visual.

Os axônios de cada cartucho da lâmina se projetarão coerentemente ao longo do quiasma óptico externo (CHE - Fig. 4), juntamente com os axônios dos fotorreceptores R7-8 de mesmo alinhamento óptico, configurando o sinal de entrada da coluna medular. O número de colunas na medula é igual ao número de cartuchos da lâmina e de omatídeos.

Conforme avançamos para centros superiores de processamento visual, os mecanismos e funções exatas de suas estruturas tornam-se menos claros, sendo alvos de intensa pesquisa. Investigações na medula sugerem que ela esteja ligada à computação e extração inicial de parâmetros visuais tais como velocidade, direção, orientação e contraste do estímulo fornecido (16).

Na medula, a saída de cada coluna medular se bifurcará, projetando-se em uma coluna da lóbula e em uma coluna da placa lobular. Pesquisas indicam que os neurônios

Figura 5: Organização neuronal na lóbula e na placa lobular nos lados esquerdo e direito do lóbulo óptico. As células estão apresentadas conforme as camadas de arborização mais posteriores (P) a anteriores (A) do lóbulo direito. As setas em cada neurônio indicam sua direção preferencial (seta cheia) e direção de inibição (seta vazia). Asteriscos indicam células com direções preferenciais complexas. (ME: medula, LP: placa lobular, LO: lóbula, CC: conexão cervical, OE: esôfago, PR: protocerebro). (18).

colunares da lóbula estão associados à campos receptivos pequenos e são seletivos à orientação, estando relacionados com funções de *tracking* de objetos visuais e comportamentos de fuga ou perseguição. Já os neurônios da placa lobular consistem numa fonte de informações preciosas sobre os mecanismos de detecção de movimento. Diferentemente das colunas neuronais das demais estruturas citadas, a placa lobular é dotada de uma rede de neurônios tangenciais gigantes, organizados em camadas verticais, cada qual com uma anatomia muito própria que permite uma identificação inequívoca em preparações histológicas, com 21 classes anatômicas dessas células tangenciais conhecidas. Esses neurônios estão relacionados à detecção de campos receptivos amplos, sensíveis a movimentos e seletivos a movimentações na vertical ou horizontal no campo visual da mosca. Eles estariam provavelmente envolvidos com a estabilização do vôo (18).

É importante notar que embora as células tangenciais da placa lobular sejam frequentemente denominadas de detectores de movimento, ainda não se sabe ao certo se elas de fato são parte do circuito de detecção de movimento ou se são responsáveis apenas pela integração de sinais de entrada sensíveis ao movimento (18).

Deteremo-nos justamente na placa lobular, onde encontra-se o neurônio alvo de nossas pesquisas: o H1, que é um de seus neurônios tangenciais gigantes. O sistema visual da mosca possui um neurônio H1 em cada hemisfério, que conectam as duas placas lobulares diretamente. Com uma árvore dendrítica de $\approx 250 \mu m$ e um axônio medindo $\approx 1.200 \mu m$ de comprimento e $\approx 5 \mu m$ de diâmetro, sua resposta se dá na forma de potenciais de ação detectáveis extracelularmente (*spikes*) ao longo do axônio e da árvore dendrítica que se estendem pelo hemisfério oposto ao do neurônio e seu soma. Portanto, nesse tipo de aquisição, podemos dizer que ele é sensível a movimentos ipsilaterais regressivos. Isso quer dizer que obtemos resposta máxima do neurônio ao estimular os olhos compostos do lado oposto ao hemisfério onde se dá a aquisição do sinal, com movimentos horizontais de trás para frente em relação a cabeça da mosca, e obtemos uma resposta nula, com a inibição do sinal, para movimentos na direção contrária (Fig. 6). O neurônio H1 apresenta um período refratário de $2 ms$. Isso quer dizer que após efetuar um disparo, o neurônio fica

inativo durante 2 ms , tempo esse necessário para sua repolarização. Portanto, existe um intervalo mínimo entre disparos de 2 ms , que será tomado como uma unidade de tempo padrão na nossa pesquisa, denominada *bin*.

Figura 6: Sensitividade binocular dos neurônios H1 (lóbulos direito e esquerdo, respectivamente). Seta cheia representa a direção preferencial e seta vazia a direção de inibição (18).

Muitas pesquisas já foram feitas em torno do H1 e hoje em dia ele é um modelo de estudos consolidado em neurociência, não apenas pela já mencionada facilidade de identificação e pela resposta em spikes, mas também por sustentar respostas a estímulos por longos períodos de tempo e pelo fato da placa lobular ser reconhecidamente um centro de computação neural dos movimentos no entorno do animal, mantendo respostas estereotipadas e relativamente robustas (18).

Apesar disso, é importante lembrar que por mais estereotipada que seja a resposta do H1, não se observa uma repetibilidade spike por spike entre duas respostas do mesmo H1 para um mesmo estímulo. Ou seja: o H1 ainda se trata de uma das muitas partes do sistema complexo que ele constitui e a resposta que medimos e analisamos nele é resultado de muitos outros processamentos complexos realizados nas estruturas descritas anteriormente. Uma de suas características mais notáveis, típica desse tipo de sistemas, é seu alto grau de flexibilidade, sendo capaz de adaptar sua dinâmica conforme a estatística do estímulo fornecido, de forma a otimizar a informação transmitida (2).

2 *Metodologia*

2.1 Aspectos Experimentais

O experimento consistiu na apresentação em um monitor de um estímulo visual controlado com uma distribuição de velocidades horizontais conhecida. O neurônio H1 responderá a esse tipo de movimento com spikes que serão captados extracelularmente por um micro-eletrodo. Após a amplificação, filtragem e discriminação adequada do sinal captado, os instantes t_i de cada spike serão armazenados no computador, para posterior análise de multifractalidade.

A seguir, detalharemos o aparato experimental utilizado (Sec. 2.1.1) e o procedimento experimental de aquisição de dados (Sec. 2.1.2).

2.1.1 O Aparato Experimental

Para pormenores da eletrônica, nos referimos a (19), uma vez que isso foge do escopo de nossa investigação. Forneceremos a seguir uma visão geral da instrumentação utilizada em nossos experimentos, que vem sendo desenvolvida e aperfeiçoada no DipteraLab desde 1998. Todo o aparato de instrumentação foi desenvolvido pelo Laboratório de Instrumentação Aplicada exclusivamente para a realização deste tipo de experimentos.

A instrumentação utilizada se divide em dois blocos principais: a geração de estímulos visuais e a aquisição extracelular dos sinais neurais. Esses dois blocos são sistemas independentes que atuam conjuntamente em sincronismo.

Figura 7: (A) Diagrama em bloco simplificado do sistema de instrumentação para um experimento típico do DipteraLab. (B) Subdivisões em módulos interconectados do sistema dedicado. (19)

2.1.1.1 Geração de Estímulos

Em termos de estimulação visual, os displays encontrados comercialmente são adequados à visão humana pois propiciam uma sensação de movimento contínuo a partir de apresentações de 15 – 30 quadros de imagem por segundo. Em monitores desse tipo o sistema visual da mosca acaba detectando uma série de artefatos indesejáveis inerentes ao mecanismo de formação da imagem: por uma questão de sobrevivência, seu sistema visual evoluiu de forma a ter uma sensibilidade para captação de movimentos rápidos muito superior a do olho humano, sendo portanto capaz de efetuar uma detecção quadro a quadro nesses monitores, sem a impressão de continuidade que o olho humano percebe e distorcendo assim as propriedades do estímulo que se deseja apresentar durante o experimento.

Para sanar esse problema foi desenvolvido um sistema de geração de imagens capaz de apresentar mais quadros por segundos, tantos quanto fossem suficientes para que a mosca percebesse a imagem não mais quadro a quadro, mas sim como num filme contínuo. Com base no período refratário estimado para o neurônio H1 ($\approx 2ms$) foi desenvolvido um sistema de geração de imagens a $500Hz$, onde a varredura completa da tela é inferior ao período refratário do neurônio e portanto, supõe-se que isso permitiria uma visualização contínua da imagem pela mosca (20).

Esse sistema de geração de estímulos é constituído por:

1. **Computador Hospedeiro:** Realiza a interface do sistema dedicado com o usuário, armazenando dados neurais e fornecendo dados de estímulo. Nesse computador armazenamos o padrão de imagem a ser carregado pelo VSIImG (*monet*) e o arquivo contendo as sucessivas posições que o *monet* ocupará no monitor – e consequentemente, as velocidades horizontais que estimularão o H1. Além disso, esse é o mesmo computador usado para se armazenar os instantes t_i dos spikes no sistema de aquisição do sinal.

2. **Gerador de Estímulos Visuais (VSIImG):** Consiste num monitor de vídeo do tipo XY TEKTRONIX, modelo 608, deflexão eletrostática, com tela de fósforo P_{31} e um hardware dedicado. Essa combinação permite ao monitor alcançar as frequências mais altas necessárias para o experimento com mosca. Sua resolução é de 256×256 pixels, por 256 níveis de cinza. A cada 2 ms , inicia-se a varredura de um novo quadro. A cada início de uma nova varredura, o VSIImG envia um sinal solicitando a próxima posição para o computador hospedeiro, que armazena o instante no arquivo TELA.dat e fornece ao Conversor Digital Analógico (DAC) a próxima posição (com um quadro de antecedência). O DAC toma a posição fornecida pelo computador hospedeiro e a converte em uma voltagem, que será fornecida ao VSIImG. Essa voltagem será somada à varredura *horizontal* do sistema, causando assim um deslocamento na posição do *monet*. Pela exigência de altas frequências, a fim de se obter o efeito de deslocamento *horizontal* do *monet*, o sistema usa para todos os quadros o mesmo *monet*, efetuando apenas deslocamentos de voltagem na varredura.

2.1.1.2 Aquisição Extracelular do Sinal

A aquisição do sinal pode ser dividida em cinco etapas principais, que apresentaremos a seguir.

Figura 8: As cinco principais etapas na aquisição do sinal: (1) Captação, (2) Amplificação, (3) Filtragem, (4) Discriminação e (5) Registro dos tempos de ocorrência. Adaptado de (19).

1. **Captação:** Como em nossa pesquisa estamos interessados apenas nos spikes disparados pelo neurônio H1 em resposta ao estímulo fornecido, foi feita a opção de aquisição extracelular do sinal, onde o micro-eletrodo é posicionado numa região externa porém próxima ao neurônio de interesse. Essa técnica, sendo menos invasiva, permite a aquisição de sinais neuronais mais próximos possíveis das condições naturais de funcionamento do H1, sem comprometer seriamente a dinâmica interna da célula e permitindo um nível de detalhe adequado ao que nos interessa.

Figura 9: Posicionamento ideal do micro-eletrodo extracelular em relação ao neurônio H1. Note que se trata de uma montagem, uma vez que em condições naturais o H1 não é visível a olho nu.

No meio extrafisiológico, a intensidade do sinal propagado em volta do axônio do neurônio H1 devido ao spike é da ordem de $20 - 100 \mu V$. A captação desse sinal foi feita por meio de um micro-eletrodo de tungstênio marca FHC, próprio para esse tipo de experimento. Esse micro-eletrodo tem seu corpo revestido por verniz isolante de epoxi, sendo que apenas sua ponta fica exposta. Teremos uma maior ou menor seletividade do sinal pelo micro-eletrodo conforme a área exposta da ponta. Dado o grande número de neurônios que disparam concertadamente em resposta aos estímulos visuais, é importante ter um alto grau de seletividade de sinal, a fim de podermos captar essencialmente o sinal de interesse. Assim, no nosso caso procuramos usar micro-eletrodos com áreas expostas menores, que garantem uma maior seletividade dos sinais porém com uma maior resistência elétrica em contrapartida – que com estes níveis de sinais neurais não contribuirá significativamente

com ruídos térmicos. As impedâncias dos micro-eletrodos utilizados variaram entre $2,7 - 5 \text{ } M\Omega$.

Um micro-eletrodo capaz de captar um sinal de tão baixa amplitude acaba inevitavelmente captando não apenas o sinal do H1, mas também ruídos intrínsecos do sistema biológico (neurônios vizinhos, outras estruturas tais como músculos, traquéias, movimentação do animal) bem como ruídos eletromagnéticos externos ao sistema devido a equipamentos eletrônicos, lâmpadas fluorescentes, fiação da rede elétrica, entre outros. Assim, uma vez captado, esse sinal precisa passar pelas etapas seguintes para se tornar condicionado a uma análise quantitativa confiável.

2. **Amplificação:** A amplificação se dará em duas etapas:

- (a) **Amplificador Diferencial:** Foi utilizado um amplificador de instrumentação que encontra-se localizado no próprio headstage (Fig. 14), imediatamente após o micro-eletrodo. Isso é feito para evitar a interferência de mais ruídos ao longo da transmissão de um sinal sem amplificação. As duas entradas desse amplificador serão dadas pelo micro-eletrodo, posicionado numa região de máxima proximidade ao neurônio H1, e pelo fio de referência, também posicionado dentro da cabeça da mosca de forma simétrica ao micro-eletrodo – em geral, no canto inferior da cabeça aberta (Fig. 9). Essa configuração permitirá a eliminação de ruídos comuns a essas duas entradas. O amplificador também atua como um filtro passa alta, para frequências acima de $300 \text{ } Hz$, tendo consequentemente como saída um sinal AC . Essa saída terá um ganho de voltagem $\times 100$.
- (b) **Amplificador Inversor:** Nessa etapa, foi utilizado um amplificador operacional de baixo ruído, que amplificará o sinal também de $\times 100$ e cuja saída será direcionada para o rack.

Ao fim da etapa de amplificação, o sinal terá sido amplificado de $\times 10.000$, atingindo então da ordem de $1 \text{ } V$, e já tendo sido pré-filtrado.

3. **Filtragem:** Para esse propósito, foram usados filtros ativo passa alta (frequência de corte = 300 Hz) e passa baixa (frequência de corte = 7 kHz), conformando um filtro passa-banda que refina mais a banda de frequências desejadas, eliminando componentes de altas e de baixas frequências.
4. **Discriminação:** O sinal antes de ser efetivamente discriminado passa por um monitor de áudio que permite um monitoramento sonoro do sinal, que será de grande valia na preparação do experimento, durante a localização do H1.

A discriminação se dá por meio de um discriminador de janela de amplitude ajustável, com um limiar inferior (LI) e superior (LS) (Fig. 8). Se o sinal estiver fora desse intervalo (tanto para mais como para menos), nada acontece. Se o sinal estiver dentro dessa janela de amplitude, isso elicia um pulso digital com largura fixa de $10\mu\text{s}$. Temos assim a digitalização do sinal captado por discriminação, onde se atribue o valor 1 para cada pulso gerado pelo discriminador e um valor 0 quando nada é detectado.
5. **Registro dos tempos de ocorrência:** Nessa etapa, para cada spike ($= 1$) será atribuído seu respectivo instante temporal t_i . No sistema de aquisição utilizado em nossos experimentos, isso foi feito com o auxílio do Hardware Digital Dedicado (Fig. 7), cujo relógio tem resolução de $1\mu\text{s}$. O instante de cada disparo será registrado num arquivo de dados, no Computador Hospedeiro.

2.1.2 O Experimento

As aquisições foram conduzidas conforme o protocolo vigente no laboratório, descrito a seguir.

2.1.2.1 Preparação

As diferenças anatômicas e estruturais entre o sistema visual de moscas machos e fêmeas são conhecidas (13), embora ainda não se saiba exatamente como isso afeta o processamento da informação visual e quão diferenciado ele resulta. Por isso, todos os

Figura 10: Mosca imobilizada para o experimento.

experimentos foram realizados em moscas fêmeas, por possuírem um H1 de localização mais fácil.

Primeiramente, a mosca é preparada para uma microcirurgia através de sua imobilização com cera, posicionamento da mosca no suporte e posicionamento adequado da cabeça. Para manter a mosca viva por um longo período de tempo – que pode chegar a uma semana, em condições ambientais favoráveis – é inserido um tubo de alimentação no suporte que fica ao alcance da boca da mosca, fornecendo-lhe água com açúcar quando necessário (Fig. 10).

Com um microscópio e um micro-bisturi, num exercício de habilidade motora são feitas incisões seguidas pela remoção do exoesqueleto protetor na parte posterior da cabeça da mosca. O interior da cabeça fica então exposto e com um micro-gancho rompe-se um músculo transparente de difícil visualização, localizado ao longo do canto interno do hemisfério exposto. Se isso não for feito adequadamente a aquisição de dados é comprometida, pois este músculo é uma grande fonte de ruídos devido a suas contrações periódicas. Ainda com o gancho, remove-se cuidadosamente os sacos de ar, que recobrem externamente as camadas do cérebro. É posicionado então o fio de referência no canto inferior externo da cabeça da mosca (Fig. 11).

A próxima etapa consiste na localização do sinal do neurônio H1 com micro-eletrodo

Figura 11: Cabeça da mosca exposta. Detalhe no zoom: traquéias respiratórias e posição provável do sinal ótimo do H1 (invisível a olho nu).

extracelular. Essa tarefa pode durar até horas e exige experiência e intuição por parte do experimentador, uma vez que sua localização é feita “às cegas” dentro de uma região de maior probabilidade de encontrá-lo, com a ajuda da saída de áudio amplificada do sinal elétrico captado (Fig. 12). Uma vez localizado o sinal do neurônio, são realizados micro-ajustes do micro-eletrodo, a fim de amplificar o sinal e reduzir o ruído proveniente de outros neurônios e de traquéias respiratórias que se encontram na região (Fig. 13).

2.1.2.2 Aquisição de Dados

A mosca devidamente preparada foi posicionada a 10 cm do monitor, regulado com uma luminância de $\approx 10\text{ lux}$.

Carregamos o monet *calibre.vsg* no monitor, que consistia num padrão de barras verticais (Fig. 14).

Nove tipos diferentes de estímulos foram utilizados, cada qual com um diferente arquivo de posições determinadas por diferentes distribuições estatísticas de velocidades: sem estímulo (barras em repouso) ($S0$), estímulo com velocidade constante ($S1$), estímulo com velocidade obedecendo a uma distribuição gaussiana descorrelacionada ($S3$) ou es-

Figura 12: Inserção do micro-eletrodo extracelular no cérebro da mosca. Esq: Mosca posicionada para localização do sinal. Dir: micro-eletrodo inserido com sinal detectado.

Figura 13: Tela do osciloscópio: (1) Sinal Captado. (2) Sinal Discriminado.

tímulos com velocidades obedecendo à uma distribuição gaussiana correlacionada ($S2_{\tau_c}$), com os seguintes tempos de correlação: $\tau_c = 10$ bins ($S2_{10}$), $\tau_c = 20$ bins ($S2_{20}$), $\tau_c = 30$ bins ($S2_{30}$), $\tau_c = 50$ bins ($S2_{50}$), $\tau_c = 100$ bins ($S2_{100}$), $\tau_c = 200$ bins ($S2_{200}$).

Cada estímulo era composto por uma parte repetida (PR) de 10 segundos de duração, e uma parte aleatória (PA_i) também de 10 segundos de duração, ambas obedecendo à

Figura 14: Mosca posicionada para o início das aquisições. Ao fundo, anteparo circular com monet carregado no monitor com ($v = 0$).

distribuição estatística de velocidades previamente definida. A combinação $\{PR PA_i\}$ era então apresentada 120 vezes, totalizando uma duração de 40 minutos de estímulo $S = \{PR PA_i\}_{i=1, \dots, 120}$. A parte aleatória é importante, pois sendo o sistema visual da mosca altamente adaptativo (2), esta é uma tentativa de evitar a adaptação do sistema a um mesmo estímulo. Essa adaptação pode ser verificada pela queda contínua na taxa de disparos ao longo do experimento quando o mesmo não apresenta variabilidade, como pode ser observado no caso do estímulo com velocidade constante, onde não podemos introduzir a parte aleatória (PA_i) uma vez que isso alteraria a estatística do estímulo.

Realizamos dois tipos distintos de sessões de experimentos: apresentação dos estímulos $E_1 = [S1, S3, S2_{10}, S0]$ sucessivamente nessa ordem, e apresentação dos estímulos $E_2 = [S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$. Ao término de cada sessão era observado um tempo de descanso de 40 minutos, onde a mosca era poupada de qualquer estímulo visual. Verificamos ser isso de suma importância, uma vez que a qualidade do sinal cai consideravelmente após períodos longos de aquisições, recuperando-se após repouso.

Cada mosca estudada foi submetida a uma dessas sessões, que era repetida até que a mosca morresse ou a qualidade do sinal se deteriorasse a ponto de prejudicar a aquisição (sempre observando os intervalos de descanso entre sessões).

2.2 Aspectos Teóricos

2.2.1 Multifractalidade

Para entender melhor o que é multifractalidade e o significado dos parâmetros usados em nossa análise para estimá-la, tomamos o exemplo clássico de geração de multifractais: o Processo Binomial Multiplicativo. Para maiores detalhes, ver Feder(21).

2.2.1.1 O Processo Binomial Multiplicativo

Nesse processo, dispomos inicialmente de $\mathcal{N}$ elementos de massa¹ a serem distribuídos em um suporte geométrico, no caso, um segmento de reta $\mathcal{S} = [0, 1]$. A regra adotada na distribuição desses elementos, ilustrada na Fig. 15, é a seguinte: partindo inicialmente de uma distribuição uniforme da massa ao longo do suporte, a cada nova iteração n subdividimos o suporte em 2^n segmentos iguais de tamanho² $\delta = 2^{-n}$ e redistribuímos a massa contida nos segmentos de forma que uma fração $\mu_0 = \mathcal{N}_0/\mathcal{N} = p$ ocupe a primeira nova metade do segmento e uma fração $\mu_1 = 1 - p$ ocupe a segunda nova metade. Isso é repetido sucessivamente, com $n \rightarrow \infty$.

Seguindo esse procedimento, já em $n = 4$ observamos na Fig. 15 que a distribuição de massas possui uma certa estrutura. Pelas cores utilizadas na indexação vemos que certas frações de massas ocorrem com mais frequência que outras. Representando a fração de massa no i -ésimo segmento, n -ésima iteração, por $\mu_i = \mu_0^k \mu_1^{(n-k)}$ ($k = 0, 1, \dots, n$), vemos que segmentos de massas iguais têm em comum o mesmo fator k . Tomando $\xi = k/n$ podemos agrupar todos os segmentos de mesma massa num subconjunto S_ξ , de forma que $\mathcal{S} = \bigcup S_\xi$. Note que k representa o *número* de 0s na fração binária representativa de cada massa (e.g., $\mu_9 = \mu_1 \mu_0 \mu_0 \mu_1 = \mu_0^2 \mu_1^2 \rightarrow 1001$). Já ξ representa a *fração* de zeros numa fração binária *infinita* ($n \rightarrow \infty$), representativa dos elementos pertencentes à S_ξ .

¹Empregaremos o termo *massa* para designar qualquer quantidade – física ou não – que possa ser distribuída num suporte geométrico. Em particular, para nossa pesquisa, a distribuição de *massa* se referirá a uma distribuição de probabilidades.

²No caso generalizado esses segmentos poderão ter tamanhos diferentes.

Isso fica mais claro na Fig. 16: os intervalos cujas barras têm mesma altura pertencem ao mesmo subconjunto S_ξ . Nessa figura, podemos observar também o processo denominado por Mandelbrot como *empelotamento*, onde uma distribuição de massa originalmente uniforme acaba se acumulando em pelotas muito densas em pequeníssimas regiões.

Figura 15: Processo Binomial Multiplicativo para as quatro primeiras iterações. Os segmentos indexados com a mesma cor contém massas iguais.

Figura 16: Processo Binomial Multiplicativo com $p = 0.25$, 10 iterações. Segmentos de mesma altura pertencem ao mesmo S_ξ . Distribuição de massas ao longo de $\mathcal{S} = [0, 1]$, $x \in \mathcal{S}$.

Essas singularidades podem ser caracterizadas pelo expoente de Lipschitz-Hölder, α , definido por

$$\mu_\xi = \delta^\alpha \quad (2.1)$$

O expoente α pode também ser interpretado como um expoente de escala, que descreve *localmente* como a densidade de massa escala com o tamanho do segmento; assim, segmentos de mesma massa terão também um mesmo α , tal como ξ . Pode-se inclusive provar (21) que existe um mapeamento linear entre os valores de ξ e de α , sendo que na prática, como $n \rightarrow \infty$, o parâmetro α é comumente usado no lugar de ξ .

No limite $n \rightarrow \infty$, tomamos cada S_α , formado por todos os segmentos infinitesimais contendo uma mesma massa se escalando conforme α , e recobrimo-os com segmentos de tamanho δ . Podemos calcular sua d-medida $M_d(S_\alpha)$ e consequentemente, a dimensão fractal de S_α :

$$M_d(S_\alpha) = \sum_{S_\alpha} \delta^d = N_n(\alpha) \delta^d \sim \delta^{-f(\alpha)} \delta^d \xrightarrow{\delta \rightarrow 0} \begin{cases} 0, & d > f(\alpha), \\ \infty, & d < f(\alpha). \end{cases} \quad (2.2)$$

A dimensão fractal será portanto $f(\alpha)$ (21).

Para o processo binomial multiplicativo descrito, $N_n(\alpha)$ pode ser determinado pelo coeficiente binomial tomando n de ξn a ξn e usando a fórmula de Stirling para $n \rightarrow \infty$. Teremos

$$\alpha(\xi) = -\frac{\xi \ln p + (1 - \xi) \ln (1 - p)}{\ln 2} \quad (2.3)$$

$$f(\xi) = -\frac{\xi \ln \xi + (1 - \xi) \ln (1 - \xi)}{\ln 2} \quad (2.4)$$

O cálculo de $\{\alpha, f(\alpha)\}$ para o processo binomial multiplicativo resulta em curvas do tipo apresentado na Fig. 17, donde conclui-se que cada subconjunto de pontos S_α é um fractal, pois possui dimensão $f(\alpha)$ não inteira; além disso, vemos que esses subconjuntos possuem dimensões fractais diferentes entre si, daí o motivo pelo qual dizemos que a distribuição da população de massas no suporte geométrico $\mathcal{S}$ é *multifractal*, ou seja, composta por inú-

meros monofractais de diferentes dimensões. Note que portanto, podemos ter um suporte geométrico com dimensão inteira – não-fractal, como $\mathcal{S} = [0, 1]$ – contendo distribuições de massa sendo por sua vez fractais.

Espectros multifractais com uma abertura maior (intervalo $[\alpha_{min}, \alpha_{max}]$ maior) implicam uma maior multifractalidade (mais dimensões multifractais), consequentemente apontando para processos subjacentes dotados de uma paisagem dinâmica mais rica e portanto, mais complexos.

Figura 17: Processo Binomial Multiplicativo com $p = 0.25$, 10 Iterações. Espectro multifractal $f(\alpha) \times \alpha$.

O espectro multifractal $f(\alpha)$ possui duas características especialmente relevantes: o máximo de $f(\alpha) = D$ corresponde à dimensão do suporte geométrico e no ponto $f(\alpha_S) = \alpha_S = S$ ($\xi = p$), o valor S fornecerá a entropia do processo multiplicativo (21). Pode-se demonstrar que a medida de massa $\mathcal{M}(S_n(\xi)) = N_n(\xi)\mu_\xi$ obedece a uma gaussiana de média p e variância $p(1 - p)$, com um pico bastante agudo em $\xi = p$ e decrescendo com $n^{-1/2}$ conforme $n \rightarrow \infty$, indicando que a massa se concentra maciçamente em $S_{\xi=p}$, ou seja, no subconjunto de dimensão fractal igual a S , demonstrando mais uma vez o efeito do empelotamento.

No caso geral do processo multiplicativo, onde o intervalo é dividido em b segmentos com pesos $p_0, p_1, \dots, p_{b-1}$, temos

$$S = - \sum_{\beta=0}^{b-1} p_{\beta} \log_b p_{\beta} \quad (2.5)$$

2.2.1.2 Expoentes de massa $\tau(q)$

O problema é que o cálculo do espectro multifractal apresentado em 2.2.1.1 exigiu um conhecimento detalhado do processo de distribuição das massas, tornando-se portanto inviável quando na prática o que desejamos desvendar é justamente esse processo de geração do padrão multifractal. Esse problema pode ser resolvido quando dividimos o segmento $\mathcal{S}$, com os $\mathcal{N}$ elementos de massa já devidamente pulverizados pelo processo gerador ao longo de $\mathcal{S}$, em células com tamanho da ordem de δ e consideramos uma nova medida $M_d(q, \delta)$ ao longo de $\mathcal{S}$, dispensando assim o conhecimento detalhado de cada subconjunto S_{ξ} e seu conteúdo, e portanto, do processo de geração do multifractal. A amostragem de pontos obtida da i -ésima célula será dada por $\mathcal{N}_i$ e a massa ou *probabilidade* nessa célula será definida como $\mu_i = \mathcal{N}_i / \mathcal{N}$.

A nova medida $M_d(q, \delta)$ lidará com o problema do empelotamento ao considerar uma dimensão fractal $\tau(q)$ ponderada pela distribuição de massa ao longo do suporte:

$$M_d(q, \delta) = \sum_{i=1}^N \mu_i^q \delta^d = N(q, \delta) \delta^d \sim \delta^{-\tau(q)} \delta^d \xrightarrow{\delta \rightarrow 0} \begin{cases} 0, & d > \tau(q), \\ \infty, & d < \tau(q). \end{cases} \quad (2.6)$$

Note em (2.6) que o fator q é o responsável por atribuir maior ou menor importância às células mais ou menos densas na medida: para $q \gg 1$, as células de maior peso serão mais significativas ao passo que para $q \ll -1$ as células menos densas influenciarão mais no expoente de massa $\tau(q)$ calculado. Portanto, a medida $M_d(q, \delta)$ é caracterizada por uma *sequência* de expoentes de massa dada pelos momentos de ordem q escolhidos. Será essa sequência agora que controlará a maneira como as massas μ_i se escalam com δ .

Usaremos uma sequência D_q ligeiramente modificada,

$$D_q = \tau(q)/(1 - q). \quad (2.7)$$

Esse ajuste permitirá que $D_q = E, \forall q$, para conjuntos de densidade constante num espaço de dimensão E , sendo essa a forma mais geral de abordar os expoentes de massa. Combinando (2.6) com (2.7), o espectro de D_q será dado por

$$D_q = \frac{1}{q-1} \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\ln N(q, \delta)}{\ln \delta} = \frac{1}{q-1} \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\ln \sum_i \mu_i^q}{\ln \delta} \quad (2.8)$$

que por sua vez pode ser calculado experimentalmente, usando apenas as probabilidades $\{\mu_i\}$, atentando que, para $q \rightarrow 1$ a singularidade pode ser tratada resultando em

$$D_1 = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i \ln \mu_i}{\ln \delta} \quad (2.9)$$

a qual também se relaciona com a entropia $S(\delta)$ de um sistema com probabilidades $\{\mu_i\}$ distribuídas em células δ , $S(\delta) \sim D_1 \ln \delta$.

Figura 18: Processo Binomial Multiplicativo com $p = 0.25$, 10 Iterações. Espectro multifractal $D(q) \times q$.

Podemos dizer que D_q é o que vemos na medida de singularidades através de um “microscópio” com lente q : para $q < 1$, as probabilidades menores têm um peso maior, e portanto vemos melhor as regiões de menor singularidade; para $q > 1$, são as probabilidades maiores que se destacam, e vemos então as regiões de maior singularidade em D_q (22).

2.2.1.3 A relação entre $\tau(q)$ e $f(\alpha)$

Comparando $\{f(\alpha), \alpha\}$ com $\{\tau(q), q\}$, vemos se tratar de abordagens diferentes para um mesmo problema: o cálculo de dimensões fractais de um conjunto de massas distribuídas num suporte geométrico $\mathcal{S}$, sendo essas dimensões dependentes da forma como as massas se escalam no suporte. Seria natural portanto poder relacionar as duas representações. Com efeito, isso pode ser feito através da seguinte transformada de Legendre (21) (Fig. 19):

$$\alpha(q) = - \frac{d}{dq} \tau(q) = \frac{d}{dq} [(q-1)D(q)] \quad (2.10)$$

$$f(\alpha(q)) = q\alpha(q) + \tau(q) = q\alpha(q) + (1-q)D(q) \quad (2.11)$$

Assim, o espectro multifractal $D(q) \times q$ se mapeia no espectro $f(\alpha) \times \alpha$ (Fig. 20).

Em nossa investigação, estaremos particularmente interessado nos extremos $\{\alpha_{min}, \alpha_{max}\}$ do espectro multifractal $f(\alpha) \times \alpha$, devido a sua já mencionada relação com a complexidade do processo subjacente. Da definição de $\tau(q)$ temos

$$\frac{d\tau(q)}{dq} = - \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i^q \ln \mu_i}{(\sum_i \mu_i^q) \ln \delta} \quad (2.12)$$

Em particular, note que para $q \rightarrow \pm\infty$, temos (Fig. 21)

$$\alpha_{min} = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\ln \max(\mu_i)}{\ln \delta} \quad \alpha_{max} = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{\ln \min(\mu_i)}{\ln \delta} \quad (2.13)$$

e assim podemos, em tese, estimar o intervalo de abertura do espectro multifractal.

Figura 19: Transformada de Legendre $\{\tau(q), q\} \rightarrow \{f(\alpha), \alpha\}$ (23)

Figura 20: Correspondências $\{\tau(q), q\}$ vs. $\{f(\alpha), \alpha\}$. Note que do lado esquerdo se concentram as altas probabilidades (“hot spots”) e no lado direito, as baixas probabilidades (“cold spots”) (23)

Figura 21: Extrapolando para α_{max} ($q \rightarrow -\infty$) e α_{min} ($q \rightarrow +\infty$) a partir de $\tau(q) \times q$. $\tau(0) =$ dimensão do suporte geométrico (23).

2.2.2 Análise de Dados

Uma vez compreendido o significado de nosso principal instrumento de análise – a multifractalidade – apresentaremos a seguir os pormenores da aplicação desse instrumento teórico em nossos dados experimentais, que se dividiu em duas etapas: a Triagem de Dados e a Análise de Multifractalidade.

2.2.2.1 Triagem dos Dados

Embora se tenha tomado todos os cuidados experimentais para minimizar o tanto quanto possível a interferência de ruídos – tanto biológicos como ambientais – na aquisição dos dados a serem analisados, é impossível eliminá-los por completo devido à própria natureza do experimento, de forma que eles estarão sempre afetando significativamente a análise de dados – como tipicamente ocorre em experimentos envolvendo fenômenos de natureza não-linear, cujos componentes de caráter randômico dificultam a modelagem.

A triagem dos dados antes de iniciarmos a análise de multifractalidade propriamente dita é mais uma tentativa de eliminar ruídos que não são intrínsecos ao processo de codificação neural. Todos os dados registrados foram previamente avaliados em dois quesitos: qualidade do raster e qualidade do filtro K_1 , que são duas abordagens tradicionais na avaliação da resposta neural e sua correlação com o estímulo fornecido (24). O raster consiste num gráfico de repetição *vs.* tempo. A i -ésima linha do gráfico corresponde a i -ésima repetição do estímulo $S = \{PR PA_i\}_{i=1,\dots,120}$, no nosso caso. Cada instante t_i em que se registra um spike é representado por um ponto (repetição, tempo) no gráfico. Consideramos que quanto maior a repetibilidade entre linhas do raster, maior sua qualidade. O filtro K_1 é um filtro de reconstrução linear do estímulo, dado pela transformada de Fourier do estímulo médio em torno de spike, dividido pelo espectro de potência do trem de pulsos. Consideramos que quanto mais próximo de um K_1 típico, maior a qualidade dos dados.

A qualidade dos dados foi determinada por um sistema de notas de 0 a 3 atribuídas tanto à qualidade do raster como à qualidade do filtro K_1 para cada estímulo; depois,

tiramos a média normalizada dessas notas para os estímulos em conjunto (sessões E_1 ou E_2 , conforme o caso). Com base nisso, elegemos as melhores moscas e suas melhores aquisições para análise. Note que ainda que tenha sido uma avaliação visual e um tanto subjetiva, essa triagem teve o importante papel de eleger os conjuntos de dados mais consistentes, com uma reprodutibilidade mínima entre uma sessão e outra, já que um dos principais objetivos desse mestrado era justamente dar uma ênfase estatística na análise de multifractalidade do H1. Lembramos sobretudo que esse critério não descarta os demais dados coletados, apenas serve como uma padronização dos dados que serão analisados.

2.2.2.2 Análise de Multifractalidade

O espectro multifractal no trem de pulsos do neurônio H1 foi obtido observando-se o procedimento descrito em (1) e (25). Nesses trabalhos, os autores assumem que a informação relevante é codificada por meio dos intervalos entre spikes; com os resultados obtidos pela análise de multifractalidade do trem de pulsos para quatro tipos de estímulos diferentes (S_0, S_1, S_2, S_3), eles defendem que essa codificação deve ocorrer em conjuntos de várias camadas, sendo que a dinâmica subjacente em cada camada é multifractal, típica de sistemas complexos e apontando para uma codificação de natureza caótica. Essa dinâmica subjacente seria altamente adaptativa e flexível, efetuando ajustes finos em sua multifractalidade conforme a estatística do estímulo exigisse, visando uma otimização na transmissão da informação (2).

2.2.2.3 Protocolo de Análise de Multifractalidade

Utilizando o software livre Scilab (26), desenvolvemos o programa de análise de multifractalidade que será apresentado a seguir. A fim de ilustrar os passos, utilizaremos a análise feita para o conjunto de dados aM13, datado de 29/10/07.

1. Tomamos o trem de pulsos $\mathcal{S}$ obtido pela aquisição. Nele estão registrados em microssegundos todos os instantes de tempo para cada disparo ocorrido: $\mathcal{S} = \{t_0, t_1, \dots, t_n\}$. Convertemos $\mathcal{S}$ para bins ($1 \text{ bin} = 2 \text{ ms}$) e fazemos $t_0 = 0$.

2. Calculamos o intervalo entre disparos: $\mathcal{I} = \{\Delta t_1, \Delta t_2, \dots, \Delta t_n\}$
3. Entramos agora no cálculo de multifractalidade em si. Ele se divide em quatro etapas principais: cálculo dos divisores, cálculo da dimensão generalizada $D_q \times q$, cálculo do espectro multifractal $f(\alpha) \times \alpha$ e por fim, obtenção das características principais da curva que nos permitirão comparar se a multifractalidade de um conjunto de dados é maior ou menor que de outro.

(a) **Cálculo dos Divisores:** Os experimentos que analisamos contêm da ordem de $n \approx 10^5$ disparos. O cálculo de intervalos entre disparos resulta numa variedade de $\approx 10^4$ intervalos distintos, ocorrendo com uma frequência máxima da ordem de 30 vezes. Nosso método de análise em última instância se reduz ao cálculo de probabilidades desses intervalos.

Figura 22: Histograma típico de intervalos entre disparos e determinação de divisores (Zoom da região de $[0, 50]$ bins. O histograma original se estende, com eventos singulares, até 600 bins).

Tendo isso em mente, seguindo um critério de maximização de entropia elegemos $N - 1$ divisores $\mathcal{D} = \{d_1, d_2, \dots, d_{N-1}\}$ que irão particionar o intervalo máximo entre disparos em N partes, que denominaremos “letras”, com

as quais classificaremos os intervalos da aquisição. Ou seja: esses divisores irão “recodificar” os intervalos, maximizando a entropia do código original, $H(N) = -\sum_k p_k \log_2 p_k$, onde p_k é a probabilidade de ocorrência da k -ésima “letra” do alfabeto de N letras adotado (Fig. 23).

$$\Delta t_i = \begin{cases} 0, & \Delta t_i \leq d_1 \\ 1, & d_1 < \Delta t_i \leq d_2 \\ \dots & \dots \\ N-1, & \Delta t_i > d_{N-1} \end{cases} \quad (2.14)$$

Figura 23: Codificação dos intervalos com alfabeto de $N = 4$ letras e dinâmica simbólica resultante.

O critério de maximização da entropia baseia-se na suposição de que o sistema de processamento biológico da mosca tenha evoluído ao longo de seus milhões de anos de existência e alcançado uma codificação de máxima eficiência na transmissão de informação. Isso implicaria um sistema com mínima entropia de ruído. Observando a Fig. 24 de Strong et al.(27) que a entropia total de um trem de pulsos cresce paralela à entropia do ruído, esse fato por sua vez valida a maximização da entropia total na determinação dos divisores. A distribuição de probabilidades que maximiza a entropia total é a distribuição uniforme. Portanto, para $N - 1$ divisores, a rotina procura $\mathcal{D}$ tal que os intervalos experimentais contidos em $[d_i, d_{i+1}]$ somem uma probabilidade de $1/N$ dentro da

precisão pré-estabelecida $prec$ (Figs. 25, 26).

Figura 24: De (27). Note que a entropia do ruído é paralela a entropia total.

Figura 25: Exemplo de cálculo de divisores para $N = 32$, $prec = 0,1$. No eixo y, experimentos aM13 com: $\tau_c = 10$ ($y = 1.0$), $\tau_c = 20$ ($y = 2.0$), $\tau_c = 30$ ($y = 3.0$), $\tau_c = 50$ ($y = 4.0$), $\tau_c = 100$ ($y = 5.0$), $\tau_c = 200$ ($y = 6.0$). Em x, o valor dos 32 divisores calculados para cada experimento.

Figura 26: Zoom do intervalo de $[2, 10]$ (Fig. 25). Note a dispersão desigual dos divisores, que se concentram em $[2, 4]$ com uma resolução de 0,1. Isso mostra que os parâmetros $prec$ e N estão intimamente associados: para aumentar N é preciso aumentar $prec$.

(b) **Cálculo do espectro $D_q \times q$:**

Uma vez calculados os divisores e recodificado o vetor de intervalos entre disparos a partir de um alfabeto de N “letras” possíveis (Fig. 23), tomamos o vetor recodificado e agrupamos letras consecutivas de L em L , resultando em “palavras” de comprimento L .

Mapeamos cada palavra de forma biunívoca em um número real no intervalo unitário de reta $\mathcal{C}(\mathcal{W})$, conforme ilustrado na Fig. 27. Note que após esse procedimento obtemos uma distribuição de massas no intervalo $[0, 1]$ tal qual descrito no processo binomial multiplicativo (Sec.2.2.1.1). No caso, $\{\mu_i\}$ serão dadas pelas probabilidades $\{p_i\}$ de ocorrência de cada palavra $\mathcal{W}_i$, estimadas experimentalmente como

$$p_i = \frac{\text{no. de ocorrências de } \mathcal{W}_i}{\text{no. total de palavras no trem de pulsos}} \quad (2.15)$$

Existem N^L palavras distintas possíveis³, resultando em N^L intervalos possíveis de serem ocupados no nosso mapeamento biunívoco. Portanto, nesse caso,

³Lembrando que o no. total de palavras distintas no trem de pulsos será inferior a esse valor.

Exemplo para $N = 4$ letras, $L = 5$:

$$01200 \quad W_1 = (0 \times 4^4 + 1 \times 4^3 + 2 \times 4^2 + 0 \times 4^1 + 0 \times 4^0) / 4^5 = 0.09375$$

$$20102 \quad W_2 = (2 \times 4^4 + 0 \times 4^3 + 1 \times 4^2 + 0 \times 4^1 + 2 \times 4^0) / 4^5 = 0.51758$$

$$03001 \quad W_3 = (0 \times 4^4 + 3 \times 4^3 + 0 \times 4^2 + 0 \times 4^1 + 1 \times 4^0) / 4^5 = 0.18847$$

Figura 27: Mapeamento das palavras W_i no espaço $\mathcal{C}(W)$.

$\delta = N^{-L}$ e podemos obter a dimensão generalizada D_q conforme (2.8),

$$D_q = \frac{1}{1-q} \lim_{L \rightarrow \infty} \frac{\ln(\sum_i p_i^q)}{L \ln N} \quad (2.16)$$

Isso será feito por meio da seguinte extrapolação dos dados experimentais:

- i. Para cada q , calculamos a curva $\ln(\sum p_i^q)/(1-q) \times L$. Em particular para $q = 1$ a eq.(2.16) no limite vale $\sum(p_i \ln p_i)/(L \ln N)$. Note que para cada L temos um conjunto $\{p_i\}$ diferente.
- ii. Esse é um ponto crítico da análise: temos que escolher o intervalo de $[0 : L_{trunc}]$ das curvas em que se observa o comportamento pelo menos aproximadamente linear a ser extrapolado. Como vemos na Fig. 28, esse intervalo é bastante limitado e varia de q para q .
- iii. Efetuamos a linearização do segmento aproximadamente linear escolhido das curvas. Exigimos que seja uma linearização do tipo $y = bx$ (28). Note na Fig. 29 que um L_{trunc} maior reduz o erro das linearizações para $q < 1$, ao passo que um L_{trunc} menor beneficia $q > 1$. Como já foi dito, D_q para $q > 1$ privilegia palavras com maior probabilidade, logo, são

Figura 28: Curvas $\ln(\sum p_i^q)/(1-q) \times L$ para $q = [-9 : 3 : 9]$, $N = 4$. Note que a região de linearidade é limitada a L s pequenos.

resultados mais confiáveis. Por isso, optamos por valores baixos de L_{trunc} , que inserirão um erro menor na região positiva do espectro de $D_q \times q$ (pelo preço de aumentar ainda mais o erro na região negativa do espectro. Mas uma vez que essa região já não era muito confiável, o prejuízo não é tão grande).

Figura 29: Linearização para Fig.28 (em tracejado), truncando em $L = 3$. Notar a não-extensividade em $D_{q \neq 0}$.

- iv. Da Eq.(2.16), $D_q = b/\ln N$, onde b é o coeficiente angular obtido da linearização.

Figura 30: Espectro $D_q \times q$ para $q = [-60 : 0.1 : 60]$. Estamos sobretudo interessados nos limites extremos de $q \rightarrow +\infty$ e $q \rightarrow -\infty$, que determinarão o α_{min} e o α_{max} da curva e caracterizarão a amplitude do espectro multifractal do conjunto de dados.

(c) **Cálculo do espectro $f(\alpha) \times \alpha$:**

Uma vez obtido o espectro $D_q \times q$, obtemos $f(\alpha) \times \alpha$ por meio da transformada de Legendre cf. Eqs.(2.10) e (2.11). O cálculo computacional do espectro $f(\alpha) \times \alpha$ decorre diretamente da aplicação das mesmas.

Figura 31: Final: Espectro Multifractal $f(\alpha) \times \alpha$. Em geral, $f(\alpha_{min}) \neq f(\alpha_{max})$

- (d) **Características do espectro multifractal:** Na Fig. 29 fica claro que devido à não-extensividade em D_q (Eq. (2.16)), estamos forçando uma linearização que na verdade não deve existir nos pontos experimentais. Por isso, na hora de estimar os pontos que caracterizam a abertura do espectro multifractal de forma quantitativa, uma análise mais cuidadosa deve ser observada. Retomando (2.13), α_{min} para nosso caso ($\delta = N^{-L}$) será

$$\alpha_{min} = - \lim_{L \rightarrow \infty} \frac{\ln \max(p_i)}{L \ln N} \quad (2.17)$$

Variando L , tomamos $x = 1/L$ e $y = \alpha_{min}(L)$ e fazemos o fit polinomial

$$y = \sum_{k=0}^m a_k x^k \quad (2.18)$$

para $m = 1, 2, 3, 4$. Note que estaremos portanto escrevendo α_{min} como

$$\alpha_{min} = a_0 + a_1 \frac{1}{L} + a_2 \frac{1}{L^2} + \dots \quad (2.19)$$

Ao extrapolarmos para $L \rightarrow \infty$, obtemos experimentalmente $\alpha_{min} = a_0$.

Inicialmente, pretendíamos caracterizar o espectro em termos de α_{min} e α_{max} . Porém, depois de um longo trabalho com os dados, ficou evidente que α_{max} , por trabalhar com a região do espectro de menores probabilidades, introduzia um erro muito grande que comprometia a análise. Acabamos por fim optando por nos limitar à α_{min} , que conforme veremos, ainda assim nos permite estimar e comparar a multifractalidade para diferentes conjuntos de dados.

É importante reconhecer que esse método contém deficiências que comprometem a confiabilidade dos resultados e que ainda é necessário um maior refinamento dessa ferramenta para que as conclusões tiradas a partir desse tipo de análise sejam definitivas.

3 *Resultados e Discussão*

Estudamos um total de 13 moscas. Dentre os nove tipos diferentes de estímulos, coletamos um total de 191 arquivos de dados de aquisição de sinal. Incluindo o tempo de preparação das moscas, de localização do sinal e de aquisição de dados, dedicamos aproximadamente 200 horas de trabalho experimental para se obter os dados estudados na análise.

A triagem dos dados elegeu um total de 6 moscas adequadas para análise de multifractalidade, sendo 5 moscas referentes a aquisições da sessão experimental tipo E_1 totalizando 32 horas de aquisição (12 conjuntos de aquisição) e 1 mosca referente a aquisições da sessão experimental tipo E_2 , totalizando 8 horas de aquisição (2 conjuntos de aquisição).

Na apresentação dos resultados, optaremos por apresentar apenas alguns dos gráficos obtidos na análise que sejam representativos das características gerais encontradas nos demais conjuntos.

3.1 Sessão de Estímulos E_1

Nossos objetivos iniciais na pesquisa eram:

1. Verificar a existência de multifractalidade no neurônio H1 para um conjunto maior de dados e de moscas estudadas.

2. Buscar estabelecer alguma relação entre os estímulos fornecidos e a abertura do espectro multifractal das respostas neurais.

Utilizando dados de sessões de experimentos do tipo $E_1 = [S_0, S_1, S_2, S_3]$, nessa primeira etapa nos restringimos a $N = 2$ e $N = 4$. Fizemos análises truncando em $L = 5$ e depois em $L = 3$, com $q = [-10 : 0.1 : 10]$, $prec = 1$. Foram examinadas as curvas de multifractalidade $f(\alpha) \times \alpha$ bem como o espectro $D_q \times q$ para todos os itens da tabela na Fig. 34. Apresentamos nas Figs. 32, 33 dois casos típicos observados.

No primeiro caso, vemos tanto na tabela de divisores (Fig. 34) como nas suas curvas de multifractalidade (Fig. 32) um comportamento observado exclusivamente nesse conjunto de dados (mosca M6), e que era o comportamento que inicialmente esperávamos: a variação tanto nos divisores como no espectro de uma aquisição para outra (mesmo estímulo) é mínima, principalmente se considerarmos algumas variações gritantes que foram observadas nos demais conjuntos de dados *para um mesmo estímulo*, exemplificada em particular na Fig. 33. Poderia se argumentar que essas discrepâncias deveriam ser atribuídas à baixa qualidade dos dados adquiridos, porém lembramos aqui que essas 5 moscas escolhidas para análise foram cuidadosamente selecionadas de um grupo muito maior, e em termos de qualidade experimental, são todas comparáveis. Em nossa triagem inclusive os dados da mosca M12 pontuaram acima da mosca M6.

Investigamos também se o aumento do espaço amostral beneficiaria nossa análise em termos de uma maior confiabilidade dos resultados. Isso foi feito somando dados de várias repetições do mesmo estímulo para uma mesma mosca e analisando-os como um conjunto só, denominado *all* nos gráficos. Entretanto, a grande variabilidade de resposta multifractal entre diferentes repetições de um mesmo estímulo nos deixa em dúvida se esse procedimento de média é adequado: por mais que a resposta observada nos rasters, por exemplo, aparentem seguir um mesmo padrão, existem características intrínsecas na codificação dessas respostas que as diferem umas das outras, que são evidenciadas pela análise de multifractalidade e que podem estar sendo perdidas neste tipo de procedimento de média, tais como ajustes típicos da dinâmica altamente adaptativa da codificação ao

Figura 32: Análise de Multifractalidade para M6, repetições $\{a, b, all = a + b\}$. $L = 5, N = 4$.

Figura 33: Análise de Multifractalidade para M12, repetições $\{a, b, d, e, f, all = a + b + d + e + f\}$. $L = 5, N = 4$.

	DIVISORES - N = 2				DIVISORES - N = 4											
	S1	S2	S3	S0	S1			S2			S3			S0		
M6																
a	4	4	3	9	3	4	6	3	4	7	2	3	5	5	9	19
b	5	4	3	9	3	4	6	3	4	8	2	3	5	5	9	19
Todos:	4	4	3	9	3	4	6	3	4	8	2	3	5	5	9	19
M8																
a	7	6	5	8	5	7	10	4	6	12	3	5	9	5	8	13
M9																
a	4	5	4	6	3	4	5	4	6	10	3	4	6	5	7	9
b	4	5	4	7	4	5	6	4	6	9	3	4	6	5	7	11
c	5	6	5	6	4	5	6	4	6	9	3	4	6	5	7	10
d	5	6	5	6	4	5	6	4	6	9	4	5	8	5	6	8
Todos:	4	6	4	6	3	4	5	4	6	9	3	4	6	5	7	10
M11																
a	5	5	4	10	4	5	7	4	6	12	3	4	7	6	10	17
b	6	5	4	9	4	5	7	4	5	9	3	4	7	6	9	16
c	7	5	4	9	5	8	14	3	5	10	3	4	7	6	9	16
Todos:	6	5	4	9	4	6	9	4	6	11	3	4	7	6	9	16
M12																
a	6	6	6	8	4	5	7	5	7	11	4	6	10	5	7	11
b	6	7	6	9	5	7	10	4	6	12	4	6	12	5	9	19
a+b	6	6	6	8	5	6	8	4	6	10	4	6	11	5	8	14
d	3	3	3	9	2	3	4	2	3	5	2	3	5	6	9	15
e	5	3	3	7	4	5	7	2	3	5	2	3	5	5	8	15
d+e	4	3	3	8	3	4	5	2	3	5	2	3	5	5	8	14
f	6	4	4	9	4	6	11	3	5	12	3	5	12	5	9	20
Todos:	5	4	4	8	3	4	6	3	5	9	2	3	6	5	8	15

Figura 34: Cálculo de divisores com precisão de 1, para $N = 2, N = 4$. Mxxx: identificação da mosca. $\{a, b, c, \dots\}$: repetição

longo do tempo, que sabemos existir (2).

Dada as discrepâncias presentes para dados adquiridos em uma mesma mosca, nos abstermos de mostrar aqui que essas também foram observadas nas comparações de dados de moscas diferentes (mesmo estímulo).

Assim, dos nossos objetivos iniciais:

1. Conseguimos verificar multifractalidade para todos os dados analisados, tanto individualmente para cada repetição como para o conjunto de todas repetições de um mesmo estímulo, numa mesma mosca (*all*).
2. Os resultados foram inconclusivos no que diz respeito ao estabelecimento de uma relação entre estímulo vs. abertura do espectro multifractal.

Isso nos motivou a realizar sessões de experimentos do tipo E_2 , onde ampliamos o intervalo dos tempos de correlação estudados numa tentativa de mapear melhor o comportamento da multifractalidade.

3.2 Sessão de Estímulos E_2

Os dados analisados nessa etapa foram provenientes de sessões de experimentos do tipo $E_2 = [S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$.

Nessa análise, inicialmente buscamos padrões entre o estímulo fornecido vs. abertura do espectro. À essa altura entretanto foi se tornando evidente o forte impacto negativo que o erro crescente conforme avançamos para o lado direito do espectro multifractal ($q < 0$) estava trazendo à análise (Figs. 35, 36). Cientes também das deficiências do processo de linearização devido a não-extensividade em D_q (Fig. 29), nos focamos no estudo do α_{min} e sua variação conforme o estímulo fornecido, uma vez que observamos que $\alpha_{q=0}$ era

estável para as diferentes curvas da mesma mosca – o que era esperado, uma vez que $\alpha_{q=0}$ corresponde a dimensão do suporte geométrico $\mathcal{C}(\mathcal{W})$.

Figura 35: Espectro Multifractal para aquisição *aM13*, $N = 4$, diferentes τ_c .

Figura 36: Espectro Multifractal para aquisição *aM13*, $N = 8$, diferentes τ_c .

Figura 37: Tabela com Divisores para Aquisições aM13 e bM13.

t _{corr}	N	DIVISORES - L trunc = 2																									
		AM13													BM13												
10	N = 2	4,0													3,1												
	N = 4	3,1 4. 6,6													2,4 3,1 4,5												
	N = 8	2,6 3,1 3,5 4. 4,9 6													2,1 2,4 2,7 3,1 3,6 4,5 8,4												
	N = 16	2,4 2,6 2,9 3,1 3,3 3,5 3,7 4. 4,4 4,9 5,6 6,6 8,2 11,6 21,1													1,9 2,1 2,3 2,4 2,6 2,7 2,9 3,1 3,3 3,6 3,9 4,5 5,4 8,4 26,3												
20	N = 2	3,8													2,8												
	N = 4	2,9 3,8 6.													2,3 2,8 3,7												
	N = 8	2,5 2,9 3,3 3,8 4,5 6													2,1 2,3 2,5 2,8 3,1 3,7 5,6												
	N = 16	2,3 2,5 2,7 2,9 3,1 3,3 3,5 3,8 4,1 4,5 5,1 6. 7,4 10,2 19													1,9 2,1 2,2 2,3 2,4 2,5 2,6 2,8 2,9 3,1 3,4 3,7 4,3 5,6 18,8												
30	N = 2	3,6													2,5												
	N = 4	2,8 3,6 5,8													2,2 2,5 3,2												
	N = 8	2,4 2,8 3,2 3,6 4,4 5													1,9 2,2 2,3 2,5 2,8 3,2 4,6												
	N = 16	2,2 2,4 2,6 2,8 3. 3,2 3,4 3,6 4. 4,4 4,9 5,8 7,1 10. 18,7													-												
50	N = 2	3,9													2,7												
	N = 4	3. 3,9 6.													2,3 2,7 3,5												
	N = 8	2,6 3. 3,4 3,9 4,6 6													2,1 2,3 2,5 2,7 3. 3,5 5.												
	N = 16	2,4 2,6 2,8 3. 3,2 3,4 3,6 3,9 4,2 4,6 5,2 6. 7,4 10,1 18,4													2. 2,1 2,2 2,3 2,4 2,5 2,6 2,7 2,9 3. 3,2 3,5 4. 5. 9,7												
100	N = 2	4,0													2,6												
	N = 4	3. 4. 6,4													2,2 2,6 3,2												
	N = 8	2,6 3. 3,4 4. 4,8 6													2. 2,2 2,4 2,6 2,8 3,2 4,3												
	N = 16	2,4 2,6 2,8 3. 3,2 3,4 3,7 4. 4,3 4,8 5,4 6,4 7,9 11,1 19,7													1,9 2. 2,1 2,2 2,3 2,4 2,5 2,6 2,7 2,8 3. 3,2 3,6 4,3 7,1												
200	N = 2	4,3													2,5												
	N = 4	3,2 4,3 7.													2,1 2,5 3.												
	N = 8	2,7 3,2 3,6 4,3 5,2 7													1,9 2,1 2,3 2,5 2,7 3. 3,8												
	N = 16	2,4 2,7 2,9 3,2 3,4 3,6 3,9 4,3 4,7 5,2 6. 7. 8,8 12,5 21,6													1,8 1,9 2. 2,1 2,2 2,3 2,4 2,5 2,6 2,7 2,8 3. 3,3 3,8 5,7

Figura 38: Gráfico das posições de α_{min} , $aM13$, $N = 2$, com ajustes polinomiais de grau 1, 2, 3 (*fitpower*). No eixo x , os pontos estão ordenados cf. $x = [1, 2, 3, 4, 5, 6]$ e correspondem respectivamente ao estímulos $[S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$

Figura 39: Gráfico das posições de α_{min} , $aM13$, $N = 4$, com ajustes polinomiais de grau 1, 2, 3 (*fitpower*). No eixo x , os pontos estão ordenados cf. $x = [1, 2, 3, 4, 5, 6]$ e correspondem respectivamente ao estímulos $[S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$

Figura 40: Gráfico das posições de α_{min} , $aM13$, $N = 8$, com ajustes polinomiais de grau 1, 2, 3 (*fitpower*). No eixo x , os pontos estão ordenados cf. $x = [1, 2, 3, 4, 5, 6]$ e correspondem respectivamente ao estímulos $[S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$

Figura 41: Gráfico das posições de α_{min} , $aM13$, $N = 16$, com ajustes polinomiais de grau 1, 2, 3 (*fitpower*). No eixo x , os pontos estão ordenados cf. $x = [1, 2, 3, 4, 5, 6]$ e correspondem respectivamente ao estímulos $[S2_{10}, S2_{20}, S2_{30}, S2_{50}, S2_{100}, S2_{200}]$

Nas Figs. 38, 39, 40, 41 temos os resultados obtidos respectivamente para $aM13$, $N = 2, 4, 8, 16$. Consistentemente pode-se observar que as curvas apresentam um mínimo no intervalo de $\tau_c = [30, 100]$ bins ($x = [3, 5]$), que vai se delineando mais claramente conforme aumentamos o tamanho do alfabeto até $N = 8$, para depois se degradar conforme aumentamos mais N (e.g. $N = 16$, na Fig. 40).

Um mínimo nesse intervalo de tempos de correlação indica que existe aí uma maior abertura do espectro e portanto uma maior multifractalidade. Isso implica uma maior complexidade nos espaços dinâmicos de codificação para esses tempos de correlação e portanto, uma maior complexidade de codificação, o que é compatível com a adaptabilidade do código à estatística de estímulo visando uma transmissão ótima de informação (2).

Por fim, o histograma do espaço $\mathcal{C}(\mathcal{W})$ (Fig. 42) reforça a evidência de multifractalidade observada nos espectros, onde podemos observar que de fato existem propriedades de escala, semelhantes às observadas no Processo Binomial Multiplicativo.

Figura 42: Histograma de $\mathcal{C}(\mathcal{W})$ para aquisição 10aM13 (estímulo $S2_{10}$)

Com isso, consideramos atingidos os objetivos propostos inicialmente.

4 *Conclusão*

Em nossa pesquisa verificamos a validade dos resultados de Baptista, Grebogi e Köberle(1) dentro de um conjunto estatístico de dados maior e mais variado, corroborando a hipótese de um H1 multifractal.

Além disso, essa multifractalidade é adaptativa conforme a estatística do estímulo fornecida, sendo, para os dados analisados, máxima para estímulos com distribuição gaussiana correlacionada de velocidades com tempo de correlação no intervalo de $\tau_c = [30, 100]$ bins. Isso implica que a complexidade de processamento nesse intervalo é aumentada, suscitando especulações a respeito da importância desse intervalo de tempos de correlação para a mosca, nos estímulos visuais naturais encontrados ao longo de sua vida. É importante ressaltar também que as respostas neurais de maior complexidade não correspondem aos estímulos de maior entropia.

A adaptabilidade da codificação ao estímulo pôde ser observada também nos diferentes conjuntos de divisores calculados para cada experimento (Figs. 34, 37), sinalizando para um alfabeto de codificação variável e adaptativo.

Algumas consequências possíveis de uma dinâmica multifractal podem ser inferidas a partir de (9), (29) e (30). No que diz respeito a nossa pesquisa, uma especulação possível baseada nesses artigos diz respeito ao uso de sistemas caóticos para transmissão de informação. De acordo com (29), dado um atrator caótico com inúmeras órbitas instáveis de pequeno período – que em geral são multifractais (9) – pequenas perturbações adequadas são capazes de estabilizar uma determinada órbita, fazendo com que o sistema passe então a operar naquele regime estável. Isso revela um sistema extremamente versátil,

capaz de se adequar de forma eficiente a diferentes condições, agregando inúmeros sistemas num único sistema caótico. Um modelo desse tipo seria adequado ao caso da mosca, que apresenta um alto grau de adaptabilidade de codificação conforme a estatística do estímulo fornecido; os resultados apresentados aqui reforçam a tese de que essa adaptabilidade ocorre através de diferentes camadas dinâmicas, cada qual com sua multifractalidade.

A comprovação experimental da multifractalidade e sua quantificação no neurônio H1 é um passo rumo a um melhor entendimento da dinâmica complexa que aí ocorre, e que possivelmente poderia ser observada também em sistemas com um maior número de componentes, como o cérebro humano, por exemplo. Dado o atual estágio dessas pesquisas, uma longa e incógnita viagem se descortina pela frente e exigirá muito ainda a ser desenvolvido e descoberto, antes que tamanhas especulações possam ocupar um plano mais concreto.

Finalmente, levando em conta que esse projeto de mestrado representou uma primeira incursão no fértil território da neurociência, o resultado principal talvez não tenha sido nenhum daqueles descritos no capítulo anterior: o aprendizado mais importante de todos foi a experiência adquirida ao longo do caminho que percorremos no que diz respeito a forma como se usar uma bagagem física num contexto biológico extremamente complexo e as cautelas a serem tomadas. Apesar de toda a subjetividade desse juízo, esse é sem dúvidas o aprendizado obtido que terá a maior vida útil ao longo de uma carreira nessa área.

Como toda pesquisa em Ciência, essa é uma Viagem sem volta. Ao empreendê-la, devemos nos contentar em apenas imaginar seu trajeto e vislumbrar suas rotas iniciais, mas sobretudo, devemos estar cientes de que ignoramos seu destino final – e de que não há garantias de que de fato o alcançaremos algum dia.

Referências

- 1 BAPTISTA, M. S.; GREBOGI, C.; KÖBERLE, R. Dynamically multilayered visual system of the multifractal fly. *Physical Review Letters*, v. 97, n. 17, p. 178102, Out. 2006.
- 2 FAIRHALL, A. L. et al. Efficiency and ambiguity in an adaptive neural code. *Nature*, v. 412, n. 6849, p. 787–92, Ago. 2001.
- 3 LAUGHLIN, S. B.; SEJNOWSKI, T. J. Communication in neuronal networks. *Science*, v. 301, n. 5641, p. 1870–4, Set. 2003.
- 4 IBM Roadrunner. Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/IBM_Roadrunner>. Acesso em: 16 de Setembro de 2008.
- 5 CHURCHLAND, T. J. S. P. S. *The Computational Brain*. Cambridge: MIT Press, 1994.
- 6 GRASSBERGER, P. Problems in quantifying self-generated complexity. *Helvetica Physica Acta*, v. 62, p. 489–510, 1989.
- 7 MAINZER, K. *Thinking in Complexity: The Computational Dynamics of Matter, Mind, and Mankind*. 4. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2004.
- 8 MAYR, E. *Isto é biologia: a ciência do mundo vivo*. São Paulo: Cia. das Letras, 2008.
- 9 GREBOGI, C.; OTT, E.; YORKE, J. Unstable periodic orbits and the dimensions of multifractal chaotic attractors. *Physical Review A*, v. 37, n. 5, p. 1711–1724, Mar. 1988.
- 10 ALLMAN, J. *Evolving Brains*. New York: W.H. Freeman, 2000.
- 11 COUILLARD, P. Photoreception in protozoa, an overview. In: ALI, M. (Ed.). *Photoreception and Vision in invertebrates*. New York: Plenum Press, 1982. (NATO ASI Series, v. 74).

- 12 BORST, A.; HAAG, J. Neural networks in the cockpit of the fly. *Journal of Comparative Physiology A: neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology*, v. 188, n. 6, p. 419–37, Jul. 2002.
- 13 FRANCESCHINI, N. Retinal mosaic of the fly compound eye. In: ALI, M. (Ed.). *Photoreception and Vision in invertebrates*. New York: Plenum Press, 1982. (NATO ASI Series, v. 74).
- 14 BURKHARDT, D. Autrum's impact on compound eye research in insects. In: STAVENGA, R. C. H. D. G. (Ed.). *Facets of Vision*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1989.
- 15 HOOKE, R. *Micrographia*. London: J. Martyn and J. Allestry, 1665. Disponível em: <<http://www.gutenberg.org/files/15491/15491-h/15491-h.htm>>. Acesso em: 16 de Setembro de 2008.
- 16 LAUGHLIN, S. B. The roles of the parallel channels in the early visual processing by the arthropod compound eye. In: ALI, M. (Ed.). *Photoreception and Vision in invertebrates*. New York: Plenum Press, 1982. (NATO ASI Series, v. 74).
- 17 STRAUSFELD, N. J. Functional neuroanatomy of the blowfly's visual system. In: ALI, M. (Ed.). *Photoreception and Vision in invertebrates*. New York: Plenum Press, 1982. (NATO ASI Series, v. 74).
- 18 HAUSEN, K. The lobula-complex of the fly: Structure, function and significance in visual behaviour. In: ALI, M. (Ed.). *Photoreception and Vision in invertebrates*. New York: Plenum Press, 1982. (NATO ASI Series, v. 74).
- 19 ALMEIDA, L. O. B. *Desenvolvimento de Instrumentação eletrônica para estudos de codificações neurais no duto óptico em moscas*. 86 p. Dissertação (Mestrado) — Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, SP, 2006.
- 20 STEVENINCK, R. de Ruyter van. *Real-time performance of a movement sensitive neuron in the blowfly visual system*. Tese (Doutorado) — University of Groningen, Groningen, 1986.
- 21 FEDER, J. *Fractals*. 4. ed. New York: Plenum Press, 1989.
- 22 CHHABRA, A.; JENSEN, R. Direct determination of the $f(a)$ singularity spectrum. *Physical Review Letters*, v. 62, n. 12, p. 1327–1330, Mar. 1989.
- 23 FALCONER, K. *Fractal Geometry: mathematical foundations and applications*. 2. ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2003.

- 24 RIEKE, F. et al. *Spikes: exploring the neural code*. 3. ed. Cambridge: MIT Press, 1997.
- 25 BAPTISTA, M. et al. A complex biological system: the fly's visual module. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, Jan. 2008.
- 26 INRIA. Scilab. Disponível em: <<http://www.scilab.org/>>. Acesso em: 16 de Setembro de 2008.
- 27 STRONG, S. et al. Entropy and information in neural spike trains. *Physical Review Letters*, v. 80, n. 1, p. 198–200, Jan. 1998.
- 28 PRESS, W. et al. *Numerical Recipes*. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
- 29 OTT, E.; GREBOGI, C.; YORKE, J. Controlling chaos. *Physical Review Letters*, v. 64, n. 11, p. 1196–1199, Mar. 1990.
- 30 HAYES, S.; GREBOGI, C.; OTT, E. Communicating with chaos. *Physical Review Letters*, v. 70, n. 20, p. 3031–3034, Maio 1993.