

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

Cíntia Aparecida de Souza Garcia

Efeito do contraste local na modulação contextual no wulst visual de corujas suindaras (*Tyto furcata*).

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

2016

Cíntia Aparecida de Souza Garcia

Efeito do contraste local na modulação contextual no wulst visual de corujas suindaras (*Tyto furcata*).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Fisiologia

Orientador: Jerome Baron

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

2016

Esta dissertação foi realizada no Laboratório de Neurodinâmica do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação do Prof. Dr. Jerome Baron, e contou com o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Jerome Baron, pelo apoio, confiança e paciência,

Aos amigos que contribuíram para este trabalho,

Em especial, Pedro e Claudiana,

Ao Careca pela amizade e quebra-galhos informáticos,

Aos Neurodinâmicos, Adriano e Leo, e a todos de nossa equipe,

Às corujas,

Aos meus gatos e a boa música, companheiros fiéis,

Agradeço as duas pessoas mais importantes da minha vida:

Meu irmão, Alexandre, e minha mãe, Fafá,

Sem eles nada faria sentido.

Agradeço à Jesus Cristo, pois minha fé é dele, independente de possíveis julgamentos.

Enfim, agradeço de coração a todos aqueles que de alguma maneira me apoiaram e sempre me ajudaram a contornar o caminho das pedras.

“Things look black for the receptive field hypothesis”.

R.Shapley

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	12
LISTA DE FIGURAS	14
1 INTRODUÇÃO	16
1.1. A saliência visual e o contexto	16
1.2. O contexto e o córtex visual primário	18
1.2.1. Organização espacial do estímulo e a modulação centro-contorno	20
1.2.2. O efeito do contraste na modulação centro-contorno	23
1.3. A coruja como animal experimental	27
2 OBJETIVOS	32
2.1. Objetivo Geral	32
2.2. Objetivos específicos	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1. Cuidados com os animais	33
3.2. Procedimentos cirúrgicos	33
3.3. Registros eletrofisiológicos extracelulares:	34
3.3.1. Sedação	34
3.3.2. Registro dos sinais neuronais	35
3.4. Estimulação visual	37
3.4.1. Mapeamento dos campos receptivos	39
3.5. Protocolos experimentais	40
3.6. Análise de dados	43
3.6.1. Separação dos potenciais de ação (<i>Spike sorting</i>)	43
3.6.2. Critérios de exclusão.	44
3.6.3. Análises Iniciais	44

3.7. Ajuste de curvas	45
3.8. Seleção de modelo	48
3.9. A modulação contextual	49
3.10. Estatística geral	50
4 RESULTADOS	51
4.1. Caracterização das respostas ao contraste	53
4.2. A modulação centro-contorno no wulst visual das corujas suindaras	62
4.3. O efeito do contraste local na modulação centro-contorno	65
5 DISCUSSÃO	70
5.1. Principais achados	70
5.2. Função de resposta ao contraste: um paralelo entre corujas buraqueiras e diferentes paradigmas	70
5.3 Modulação centro-contorno no wulst visual	74
6 PERSPECTIVAS	79
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

RESUMO

A percepção visual é altamente influenciada pelo contexto, ou seja, a forma como os elementos de uma cena se organizam no espaço e no tempo. A modulação contextual pode ser definida como a informação da periferia do campo receptivo que modifica as respostas do neurônio. Dentre outros, o contraste acromático é um importante atributo das imagens conhecido por modular a resposta dos neurônios. Tendo em vista isso, investigamos o efeito do contraste local na modulação contextual por meio de registros extracelulares de neurônios do wulst visual das corujas. A resposta ao contraste de 31 neurônios do wulst visual das corujas *Tyto furcata* foram descritas utilizando *gabors* estacionários como estímulos. A maioria dessas células exibiram um comportamento monotônico a medida que a intensidade do contraste aumentava. Quatro modelos matemáticos (linear, potência, logarítmico e taxa hiperbólica), foram empregados para ajustar as curvas de resposta ao contraste de cada neurônio. De acordo com a qualidade do ajuste (R^2), o modelo de taxa hiperbólica revelou-se como melhor descritor para 78% dos neurônios do wulst, porém quando critério de informação de Akaike foi empregado essa tendência se extinguiu. Portanto, o perfil da resposta ao contraste mostrou-se relativamente variável de célula para célula. Apesar dessa variação, os resultados revelaram que uma parte significativa dos neurônios exibiram um perfil linear (39%), embora o modelo linear não seja o melhor descritor. Os resultados confirmaram que a modulação centro-contorno é engendrada pela rede de neurônios presente no wulst, as quais apresentaram um grau de supressão considerável (Média=0.35). Foi possível observar que os efeitos modulatórios tendem a ser mais fortes quando os estímulos são posicionados na zona terminal de maneira colinear, sugerindo que a saliência do contorno seja engendrada no wulst visual. Além disso, constatou-se uma tendência à facilitação em baixos contrastes e supressão em altos contrastes. A heterogeneidade de respostas dos neurônios revelou que o tipo de efeito modulatório depende do contraste e da conformação espacial dos atributos. Evidentemente, os resultados deste estudo não nos permitem afirmar que o processamento da saliência visual acontece no wulst de corujas *Tyto furcata*. Ainda, os efeitos facilitatórios encontrados confirmam a importância de se explorar esse fenômeno de forma minuciosa, pois talvez seja limitado a uma

camada ou a população específica de neurônios do wulst visual que receba retroalimentação de regiões com correspondência funcional a áreas extraestriadas de mamíferos, ou ainda que as operações engajadas na a saliência visual ocorram de forma não conhecida no wulst visual.

Palavras-chave: coruja *Tyto furcata*, curva de resposta ao contraste, modulação contextual, wulst visual.

ABSTRACT

The visual perception is greatly influenced by the context, that is the manner which elements of a scene are organised into space and time. Contextual modulation is defined as the information of the receptive field periphery that modifies neuron responses. The achromatic contrast is an important property of images known to modulate neuron responses. Here we have investigated the effect of local contrast in contextual modulation by recording extra-celular signals from single neuron within the wulst. First, we described the contrast response of 31 neurons from the visual wulst of barn owls using stationary gabor patches as stimulus. We have shown that most cells exhibit a monotonic behaviour as the contrast intensity increases. Second, we applied four mathematical models (linear, power, logarithmic and hyperbolic ratio) to adjust each cell's contrast response. According to the goodness-of-fit (R^2), the hyperbolic ratio seemed to be the best describer of 78% of wulst neurons, but since the Akaike's information criterion was employed this tendency has ceased. So we concluded that the contrast response profile was considerably variable from cell to cell. In despite of this variation, our findings reveal that a significant part of neurons (39%) exhibited linear behaviour. The results show support for previous findings that contextual modulation is engendered by the network of wulst neurons, which exhibit considerable degree of suppression (mean = 0.35). We observed that modulatory effects tend to be stronger when stimuli are collinear and placed at the end-zone suggesting that contour saliency is engendered in the visual wulst. In addition, we also noticed a tendency to facilitation effects at low contrast and suppression at high contrast conditions. The heterogeneity of the neurons responses revealed that the modulatory effects depends on the contrast and the spatial conformation of attributes. Obviously, these results does not allow us to state that processing of visual saliency happens within the visual wulst of *Tyto furcata*. However, facilitatory effects found in this work confirm the importance of exploring this phenomenon in detail, because its occurrence may be limited to a specific layer or population of neurons in the visual wulst that receive feedback from regions with functional correspondence extrastriatal areas of mammal brains, otherwise the operations engaged in the visual saliency must occur in a undisclosed manner within the visual wulst. **Key-words:** Barn owl, contrast response, contextual modulation, visual wulst.

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

AIC - critério de informação de Akaike

AIC_c - critério de informação de Akaike com correção para baixa amostragem

ANOVA - análise de variância anova

C₅₀ - contraste de semi-saturação

C_i - ponto de inflexão

CL - conexões laterais

CR - conexões de retroalimentação

CRC - campo receptivo clássico

CREC - campo receptivo extra-clássico

CRT - tubo de raio catódico

E_{FF} - conexões *feedforward*

ECRC - campo receptivo clássico excitatório

Exc - conexões excitatórias

IM - índice de monotonicidade

Inib - conexões inibitórias

IS - índice de saturação

ISI - intervalo entre disparos

ISu - índice de supressão

Mmin - resposta mínima após resposta máxima

Mresp - pico da resposta

MUA - atividade multiunitária

n - taxa de inclinação da curva

NGL – núcleo geniculado lateral

PERG - eletrorretinogramas por padrão reverso

PSTH - histogramas de tempo periestímulo

R_{\max} - resposta máxima no ponto de saturação da curva

R^2 - coeficiente de determinação

SUA - atividade unitária

TTL - lógica transistor-transistor

V1 - córtex visual primário

\emptyset - diâmetro

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
1 INTRODUÇÃO	
Figura 1.1. Imagens que apresentam saliência para cor e orientação.	17
Figura 1.2. O estímulo em CRC pode produzir respostas diferentes dependendo do contexto.	22
Figura 1.3. Os múltiplos componentes de modulação centro-contorno.	27
Figura 1.4. Coruja com câmera acoplada a sua cabeça e dos estímulos posicionados no chão da sala experimental.	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	
Figura 3.1. Representação esquemática do dispositivo multieletrodo.	35
Figura 3.2. Visão geral do setup experimental.	37
Figura 3.3. Imagem do estímulo gabor	38
Figura 3.4. Imagem do protocolo GASTC	39
Figura 3.5. Esquema representativo dos protocolos experimentais e estímulos.	42
Figura 3.6. Distância entre o gabor-central e os gabors flanqueadores	43
Figura 3.7. Representação do comportamento das curvas de cada modelo.	46
4 RESULTADOS	
Figura 4.1. Respostas de dois neurônios à estimulação com <i>gabors</i> de diferentes níveis de contraste sob a forma de histogramas de tempo periestímulo (PSTH).	52
Figura 4.2. Avaliação quantitativa resposta dos neurônios do wulst em função do contraste.	54
Figura 4.3. Curvas de resposta ao contraste para diferentes neurônios do wulst visual.	57

Figura 4.4. Porcentagem de neurônios que melhor se ajustam a cada modelo segundo os valores de	58
Figura 4.5. Comparação entre modelos considerando o peso de Akaike (AIC) para cada neurônio.	59
Figura 4.6. Distribuição dos valores dos parâmetros livres do modelo hiperbólico.	60
Figura 4.7. Distribuição dos índices de supressão (ISu) e tamanhos do campo	63
Figura 4.8. Resposta de neurônios do wulst à diferentes tamanhos de grades senoidais	64
Figura 4.9. Efeitos modulatórios na resposta de neurônios do wulst em função da organização espacial do dos estímulos e contraste local	67
Figura 4.10. Representação geral do efeito do contraste na modulação contextual	69

1 - INTRODUÇÃO

1.1. A saliência visual e o contexto

A percepção visual é mais que o simples registro passivo de uma imagem. Ver consiste fundamentalmente em um processo ativo e contínuo que permite selecionar aspectos particulares de uma imagem, relevantes para um determinado ato cognitivo. As operações que realizam esse processo de seleção são coletivamente denominadas atenção, e podem ser entendidas como um sistema de controle para o acesso consciente da experiência visual. Existem dois tipos de processo atencionais sendo um deles chamado atenção endógena e o outro atenção exógena. O primeiro requer um comportamento de busca visual em série de modo que a cada fixação, apenas um elemento ou pequena porção da imagem é visualizada. Esse tipo de processamento que requer a atenção endógena é conhecido como controle *top-down* por ser internamente gerado e diretamente ligado a componentes volitivos e cognitivos. Em contrapartida, a atenção exógena é guiada pelas características do estímulo, por meio de um mecanismo pré-atencional chamado controle *bottom-up*. Nesse caso, vários atributos da imagem são paralelamente processados, logo o comportamento de busca visual ocorre de maneira rápida atraindo o foco da atenção para porções contrastantes de uma imagem que por isso se destacam do seu meio. Sendo esse efeito conhecido como *pop-out* ou saliência visual (Treisman & Gelade 1980; Bergen & Julesz, 1983). Apesar de apresentarem características notadamente diferentes, ainda não se sabe com certeza se esses dois processos ocorrem de forma independente. Ou ainda se compartilham o mecanismo do qual emerge o processo atencional e a partir daí deixam de ser dependentes. Pinto e colaboradores (2013) não encontraram uma correlação entre a performance de humanos utilizando paradigmas psicofísicos em que é possível testar o processo *top-down* e *bottom-up* separadamente (similar à Figura 1.1). É interessante destacar que o tempo de busca/item para o teste que exigia um busca visual em série (*top-down*) foi de 60ms/item enquanto que o tempo de busca em paralelo (*bottom-up*) foi em média 1ms/item. A falta de correlação entre os dois testes endossa a hipótese de que os dois processos ocorrem independentemente.

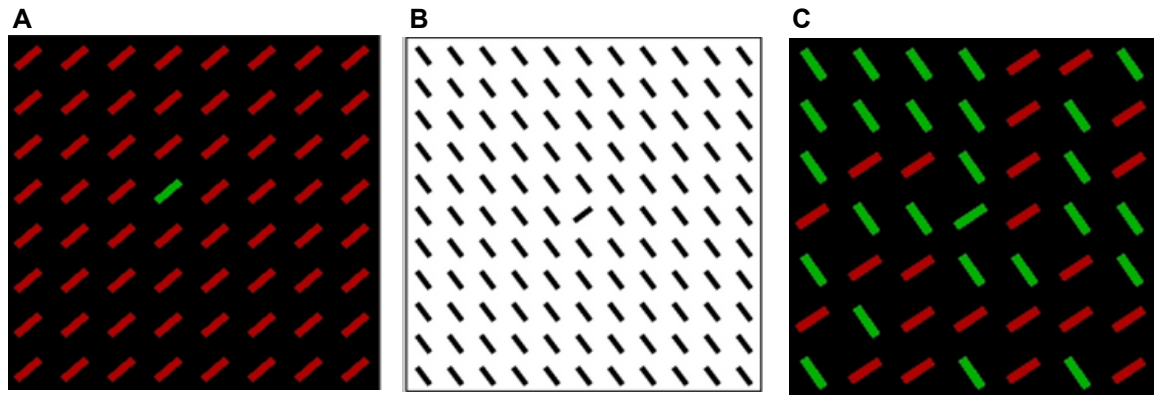


Figura 1.1. Exemplo de imagens que apresentam saliência para cor e orientação (painel A e B, respectivamente), nesses dois casos a detecção do atributo contrastante ocorre de maneira rápida e prontamente (atenção exógena). No painel C, o estímulo a ser identificado difere dos outros por mais de uma característica (cor e orientação) exigindo uma busca visual em série (atenção endógena). Adaptada de www.svcl.ucsd.edu.

O mecanismo pré-atencional exerce um papel ecológico extremamente importante, uma vez que permite a detecção rápida de elementos que se destacam numa cena. Por essa razão, inúmeros estudos investigam a saliência em primatas e humanos, abrangendo diferentes domínios como a psicofísica, a neurofisiologia e até mesmo a ciência da computação (Treisman, 1982; Bergen & Julesz, 1983; Schmid & Victor, 2014). Em 1985, Koch e Ullman desenvolveram um modelo computacional chamado mapa de saliência, o qual consiste na representação topográfica da região mais conspícua em uma cena visual. Esse modelo foi bioinspirado na forma como o sistema visual funciona, como resultado, os algoritmos desenvolvidos a partir dessa ideia foram capazes de simular o comportamento de busca visual humano testados somente em experimentos psicofísicos (Itti *et al.* 1998, 2000). Uma das possíveis aplicações com o aprimoramento desses algoritmos seria a identificação alvos militares ou a segurança eletrônica. Reitera-se que o mapa de saliência fundamenta-se no controle *bottom-up*, sendo assim, atributos básicos da imagem como orientação, cor, contraste acromático são processados paralelamente resultando em uma rápida detecção de estímulos que se destacam do seu entorno. Mais especificamente, uma comparação entre essas características acontece levando em conta o contexto, o qual compreende os atributos que compõe uma imagem e que de acordo com a sua configuração espacial podem contribuir para destacar determinado elemento em uma cena (e.g. barra vertical em meio a barras

horizontais). Portanto, quando uma parte da cena visual é mais saliente que outras o local mais saliente chama a atenção. É importante ressaltar que o estudo do contexto tem se mostrado essencial para a compreensão de como a informação visual é processada pelos neurônios para então engendrar a percepção de formas e traços distintivos em uma cena.

1.2. O contexto e o córtex visual primário

Os estudos que investigavam as propriedades dos campos receptivos de neurônios visuais foram os primeiros a sugerir a influência do contexto sobre a resposta dos neurônios no córtex visual (Hubel & Wiesel, 1965; Blackmore & Tobin, 1972; Maffei & Fiorentini, 1976; Nelson & Frost, 1978). Nesse caso, o contexto pode ser definido como a influência do estímulo apresentado na periferia do campo receptivo nas respostas do neurônio referente àquele campo (Allman *et al.*, 1985). O campo receptivo é definido como uma região delimitada do campo visual que quando estimulado evoca respostas no neurônio sob a forma de potenciais de ação (Hartline, 1938).

Em 1965, Hubel e Wiesel descreveram uma classe de neurônios do córtex visual de gatos anestesiados que tinham a resposta suprimida quando eram estimulados por uma barra ou retângulos além dos limites do campo receptivo. O mesmo neurônio voltava a exibir resposta máxima quando o campo receptivo era estimulado dentro de seus limites, porém esse neurônio não apresentava resposta evocada ao ter somente a área além das bordas do campo estimulada. Essas células foram denominadas hipercomplexas, porque além de apresentarem o efeito descrito acima, esse variava de célula a célula. Por exemplo, algumas dessas células sofriam mudanças em sua atividade quando estimuladas nas duas porções adjacentes à linha de orientação do campo, enquanto outras apresentavam modulação por apenas um dos lados. Hubel e Wiesel relataram que as células hipercomplexas pareciam servir à função de medidores de curva (quanto menor era a porção do campo ativada, menor era o raio da curva), porém essas células se mostravam seletivas para orientação. Também, pensaram em defini-las como detectores de bordas, '*corner unit*', mas declinaram essa ideia pelo mesmo motivo. De fato, nesse trabalho Hubel e Wiesel estavam relatando pela primeira vez a influência do contexto no córtex visual de gatos (área 18 e 19). Esse efeito de

supressão pelo contorno foi observado por diversos autores, sendo referido como modulação centro-contorno (e.g. Hubel & Wiesel, 1968; Blackmore & Tobin 1972; Maffei & Fiorentini, 1976; Nelson & Frost, 1985; Gilbert & Wiesel, 1990, para revisão Seriès *et al.*, 2003). Com isso, o campo receptivo visual passou a ser referido campo receptivo clássico CRC, e a região em torno do campo receptivo clássico que ao ser estimulada modula a resposta do mesmo neurônio foi nomeada campo receptivo extra-clássico CREC (Allman *et al.*, 1985). Ressalta-se que esse fenômeno baseia-se na premissa de que a resposta do neurônio não é alterada quando o estímulo é apresentado apenas no campo receptivo extra-clássico (CREC).

É interessante notar que o sistema nervoso é capaz de identificar, mesmo pequenas diferenças no contexto de modo a responder a uma situação de forma adequada. Além de ser responsável pelo processamento de atributos básicos de uma imagem como orientação, direção, cor, disparidade (DeValois *et al.*, 1982; Hubel & Wiesel 1977; Livingstone & Hubel, 1988; Poggio, 1995; Schiller *et al.*, 1996), o córtex visual primário V1 configura-se como uma região muito importante para a modulação contextual, a qual pode ser definida como a informação da periferia do campo receptivo (CREC) que modifica, modula, a resposta do neurônio podendo causar um aumento (facilitação) ou diminuição (supressão) em sua resposta. O córtex visual primário apresenta campos receptivos pequenos e recebe conexões de retroalimentação de outras áreas visuais (Lamme, 2004).

Os primeiros estudos sobre a modulação contextual em V1 utilizaram linhas em diferentes orientações e direções do movimento como estímulo (Blackmore & Tobin, 1972; Nelson & Frost, 1978; Allman 1985; para revisão). A escolha desses estímulos baseou-se na ideia de que uma cena visual pode ser construída por apenas um conjunto de linhas organizadas de uma maneira complexa. Além disso, já era sabido que os neurônios de V1 apresentavam seletividade para orientação (Hubel & Wiesel, 1968). De maneira bastante interessante, Knierim e Van Essen (1992) demonstram que os neurônios V1 de macacos em alerta respondem fortemente quando um único segmento de linha é apresentada dentro de seus campos receptivos, ao passo que a resposta do mesmo neurônio diminui significativamente quando outras linhas com a mesma orientação, formando uma textura homogênea, são adicionadas ao campo receptivo extra-clássico.

Curiosamente, esse estudo mostra também que, se a orientação das linhas apresentadas na periferia do campo é ortogonal a orientação da linha única em CRC, a resposta do neurônio aumenta novamente, mas na maioria das vezes não atinge o mesmo nível de resposta que a linha única evoca. Esses resultados são valiosos porque possibilitam uma compreensão sobre os mecanismos neuronais envolvidos com a saliência de objetos ou de determinados atributos (*pop-out*) em uma cena visual. Acrescenta-se ainda que uma série de trabalhos corroboram com esses resultados, uma vez que efeitos similares foram observados em estudos cujos estímulos utilizados variavam a orientação de CRC e/ou CREC (Gilbert & Wiesel 1990; Kapadia *et al.* 1995; Nothdurft *et al.* 1999; Jones *et al.* 2002). De uma maneira geral, um efeito supressivo foi exibido quando CRC e CREC apresentaram a mesma orientação enquanto que efeitos facilitatórios tenderam a acontecer quando CRC e CREC foram dispostos ortogonalmente, porém tais modulações variaram de célula para célula. Vale a pena lembrar que trabalhos em macacos em alerta sobre os efeitos da informação contextual demonstraram que neurônios de V1 estão envolvidos na detecção de bordas e segregação da figura-fundo de estímulos utilizando pistas contextuais que poderiam gerar a segregação de objetos em relação ao seu meio, nesse caso os estímulos usados eram texturas com orientações contrastantes entre a figura (objeto) e seu fundo (Zipser *et al.*, 1996; Lamme *et al.*, 1995).

1.2.1. Organização espacial do estímulo e a modulação centro-contorno

A organização e a posição dos estímulos na periferia do campo é um fator que exerce forte influência na modulação contextual. Como observado preliminarmente por Hubel e Wiesel (1965), certas partes da periferia do campo receptivo apresentam grande força supressiva enquanto outras não. Vários estudos mostraram que a supressão pelo contorno muitas vezes não é engendrada pelo o campo receptivo extra clássico em sua totalidade (Polat *et al.*, 1998; Mizobe *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002b; Schmid & Victor, 2014). Walker e colaboradores (1999) revelaram que para boa parte dos neurônios de V1 que apresentam supressão pelo contorno exibem o mesmo nível de supressão quando apenas uma pequena porção de CREC é estimulada, sendo o efeito observado chamado de assimetria do contorno. Com esse trabalho, foi possível demonstrar que a assimetria do contorno surge de diferentes regiões locais variando de célula

para célula. As regiões testadas no estudo foram as zonas terminais, localizadas no mesmo eixo da orientação preferida da célula, as zonas laterais posicionadas ortogonalmente a esse eixo e as zonas oblíquas, dispostas entre essas duas regiões (e.g. Figura 3.6 em Materiais e Métodos). Além disso, o efeito de supressão mostrou-se mais forte quando a orientação do estímulo em CRC e CREC eram as mesmas, do contrário, uma diminuição significativa na supressão da resposta foi gerada, ou seja, quando a orientação de CREC era ortogonal à orientação preferida do neurônio registrado. É importante destacar que a supressão pelo contorno tendeu a ocorrer quando os estímulos eram colocados na zona terminal e que, em conjunto, esses resultados nos levam a acreditar que o substrato neural para o efeito *pop-out* pode estar representado em V1.

Estudos sobre a extensão espacial dos estímulos em CREC em relação a CRC mostraram que a força da modulação centro-contorno sofre uma atenuação a medida que o estímulo em CREC se afasta de CRC, até o ponto em que o efeito modulatório se extingue (Jones *et al.*, 2002, Cavanaugh *et al.*, 2002a; Shushruth *et al.*, 2009). Ressalta-se que a modulação pelo contorno em gatos e macacos pode chegar até 12.5° além de CRC dependendo do tamanho do campo receptivo (Mizobe *et al.*, 2001; Ichida *et al.*, 2007; Shushruth *et al.*, 2009), e até 7° em humanos (Nurminen *et al.*, 2010). Esses trabalhos utilizaram dois paradigmas principais para mensurar a força da modulação centro-contorno: um deles consiste em expandir gradativamente o diâmetro do estímulo (grade senoidal) além dos limites do campo (Figura 1.2, parte superior) e o outro baseia-se na expansão do diâmetro interno de uma grade anelar, cujo diâmetro interno mínimo é o mesmo que o diâmetro de CRC (Figura 1.2, parte inferior).

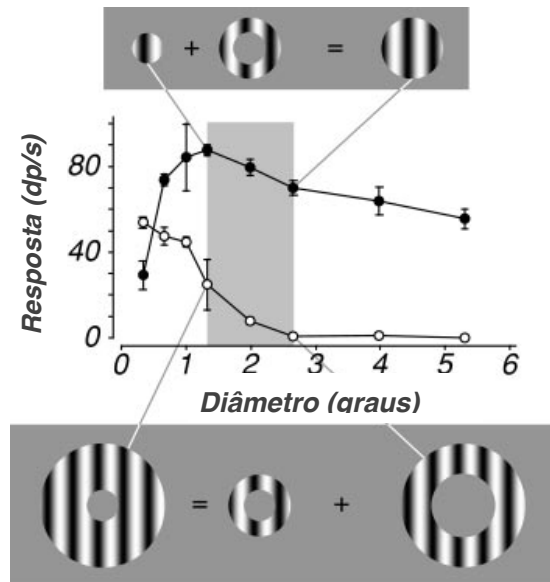


Figura 1.2. O estímulo em CRC pode produzir respostas diferentes dependendo do contexto: ●, respostas para grade senoidal com diferentes diâmetros ; ○, respostas para grade anelar. A área sombreada indica a porção fora de CRC a partir da qual a grade anelar começa a aumentar a resposta (direita para esquerda). O eixo das abcissas representam os valores em graus do diâmetro da grade senoidal bem como diâmetro interno da grade anelar. O eixo da ordenadas apresenta a resposta do neurônio em disparos por segundo (dp/s). Adaptada de Cavanaugh et al., (2002a).

No exemplo da figura 1.2, o diâmetro (\emptyset) da grade senoidal em que a resposta do neurônio começa a diminuir era de $1,3^\circ$. No entanto, a resposta a uma grade anelar começava a aumentar quando o \emptyset interno do anel era menor que $2,7^\circ$. Quando o anel de (\emptyset interno $1,3^\circ$ e \emptyset externos $2,7^\circ$) era adicionado a grade senoidal ($\emptyset = 1,3^\circ$) ocasionava-se uma forte supressão da resposta (porção superior da figura) ao passo que se o mesmo anel fosse adicionado ao anel que apresentava $2,7^\circ$ de diâmetro interno um aumento da resposta era observado (porção inferior da figura). Logo, percebeu-se que resposta do neurônio dependia do padrão de estimulação de outras partes do campo receptivo, delimitada, nesse caso, por um anel de \emptyset s internos e externos $1,3^\circ$ e $2,7^\circ$, respectivamente. A partir desses resultados, Cavanaugh e colaboradores presumiram que o estímulo posicionado em CRC reduzia a força excitatória do mesmo ao permitir que o componente inibitório de CREC predominasse sob a resposta. Da mesma forma, um estímulo (anel) que envolve parcialmente CRC reduzia a força inibitória de CREC possibilitando que o componente excitatório do centro sobrepujasse o inibitório, resultando em um aumento da resposta.

1.2.2. O efeito do contraste na modulação centro-contorno

Polat e colaboradores (1998) estudaram uma outra propriedade das imagens que é conhecida por modular a resposta do neurônio: o contraste acromático ou simplesmente contraste. Nesse estudo, realizado em V1 de gatos anestesiados, uma importante descoberta sobre a influência de diferentes níveis de contraste na modulação contextual foi revelada utilizando grades senoidais de bordas atenuadas conhecidas como *gabor*. Quando um *gabor* de baixo contraste era flanqueado por dois *gabors* de alto contraste dispostos colinearmente, muitas vezes ocorria uma facilitação na resposta do neurônio. Em contrapartida, nesse mesmo experimento a maioria das vezes que a resposta de um neurônio sofria supressão, o *gabor* posicionado em CRC apresentava contrastes com valores mais próximos ou iguais ao dos flanqueadores, ou seja, altos contrastes. Outro achado importante é que os efeitos facilitatórios ocorriam em valores de contrastes próximos ao limiar de resposta do neurônio registrado variando de célula para célula. Portanto, o valor considerado como baixo contraste mudava de acordo com a sensibilidade do neurônio.

Um outro fato altamente importante para entendermos como surgem os efeitos supressores e facilitatórios em função do contexto concerne ao tamanho de CRC bem como ao contraste. De fato, o tamanho do CRC varia de acordo com o contraste, sendo ele menor para altos valores contraste (Sceniak *et al.* 1999). Registrando no córtex estriado de macacos anestesiados, Sceniak e colaboradores flagraram tal efeito utilizando um protocolo similar ao descrito outrora: grades senoidais que aumentavam de tamanho, porém variando os seus valores de contraste (alto e baixos) de acordo com a sensibilidade de cada célula. Tendo em vista isso, sabe-se que efeitos facilitatórios ou supressores podem ser gerados dependendo do contraste do CRC quando o estímulo é também apresentado na área que define a diferença entre o tamanhos de CRC sob estimulação de alto e baixo contraste (CREC-próximo - Figura 1.3). A facilitação gerada por baixos contrastes pode ser convertida em supressão se o contraste do estímulo presente em CRC aumentar (Polat *et al.*, 1998; Mizobe *et al.*, 2001). Uma possível explicação para a inversão do sinal da modulação depende da força de ativação de CRC e CREC: altos contrastes ativam fortemente CRC permitindo que a estimulação de CREC gerem sinais inibitórios que provocam a supressão, sendo que o contrário acontece quando CRC apresenta baixos contrastes (Cavanaugh *et al.*, 2002a; Levitt & Lund,

1997; Ichida *et al.*, 2007). Efeitos similares também podem ser produzidos quando um estímulo de baixo contraste em condições otimizadas (e.g. orientação e frequência espacial preferidas) é apresentado em CRC e uma grade anelar é posicionada em CREC. À medida que a grade anelar se aproxima de CRC a facilitação se transforma em supressão e vice-versa. Uma conclusão importante revelada aqui e que corrobora com outros resultados é que há um forte efeito da supressão nas proximidades do entorno de CRC (CREC-próximo), porém a medida que CREC se afasta de CRC (CREC-afastado) a modulação supressiva se enfraquece deixando de exercer seu papel inibitório entre as sinapses excitatórias possibilitando assim a facilitação da resposta (Ichida *et al.*, 2007; Nurminen & Angelucci, 2014).

Segundo Angelucci e colaboradores (2006, 2014) os circuitos que estariam engajados com a formação e o balanço entre essas correntes excitatórias e inibitórias são gerados por conexões *feedforward* (E_{FF} - aferências do Núcleo geniculado lateral - NGL), conexões laterais ou horizontais (CL- entre neurônios de V1) e conexões de retroalimentação (CR- aferências de áreas extraestriadas). Como pode ser observado na figura 1.3-A, V1 recebe aferências do NGL que contribuem para a definição do tamanho do CRC bem como suas propriedades de seletividade (setas verde claro). Além disso, o NGL apresenta supressão pelo contorno (Alitto & Usrey, 2008), logo os efeitos supressivos observados em V1 podem também apresentar um componente supressivo advindo da modulação pelo contorno gerada no NGL. Porém, apenas as proximidades de CRC seriam moduladas pelo NGL (CREC-próximo), dada as limitações espaciais das projeções geniculocorticais (setas verde escuro). Por outro lado, as conexões laterais, as quais abrangem CRC e CREC-próximo, enviam projeções para neurônios excitatórios e inibitórios e estabelecem conexões entre neurônios que apresentam a mesma orientação preferida (setas vermelhas). Devido a sua velocidade de condução lenta bem como a extensão de suas projeções, as conexões laterais possivelmente devem contribuir para modulações originadas em CREC-próximo (Angelucci *et al.*, 2002). Por fim, as conexões de retroalimentação (setas azuis) seriam responsáveis pela a modulação centro-contorno oriundas das porções mais distantes de CREC (CREC-afastado) assim como daquelas mais próximas (CREC-próximo). Reitera-se que o papel das conexões na modulação centro-contorno por hora descritos respalda-se na ideia de múltiplos componentes da modulação

centro-contorno, a qual abarca modelos de circuitos corticais desenvolvidos por Stemmler *et al.*, (1995) e Somers *et al.*, (1998), sendo o posteriormente modificado por Schwabe e colaboradores (2006) e Nurminen e Angelucci (2014). Em linhas gerais, assume-se que um neurônio excitatório em V1 (Figura 1.3-B, ECRC), cujo CRC é estimulado, estabelece interações com neurônios que fazem parte do CREC-próximo e com a rede neurônios pertencentes à CREC-afastado. Dessa forma, esse neurônio (ECRC) recebe aferências excitatórias do NGL, inibições e excitações recorrentes, conexões laterais (CL) e conexões de retroalimentação (CR). As conexões laterais fazem sinapses com interneurônios enquanto que as conexões de retroalimentação se ligam apenas a alvos excitatórios. É importante ressaltar que a extensão espacial das CR são bem maiores que as de CL (Angelucci *et al.*, 2002). Os neurônios de CREC-afastado, os quais recebem aferências de CR, enviam sinais excitatórios para aqueles de CREC-próximo que estabelecem sinapses com neurônios inibitórios. Os neurônios inibitórios conectados a CL, por sua vez, enviam projeções para ECRC provocando a supressão de ECRC. Dessa maneira, a supressão pode ser gerada tanto pelas proximidades de CRC, quando CREC-afastado não é estimulado, quanto pela área mais afastada de CRC, quando CREC-afastado é estimulado. Os efeitos facilitatórios seriam gerados pelo alto limiar e ganho dos neurônios inibitórios locais. Isso explicaria porque neurônios que são estimulados por baixo contraste ou estímulos subótimos (e.g, tamanhos menores que CRC, orientação diferente da preferida) tendem a provocar facilitação, reiterando que nessas condições os neurônios inibitórios não tem o seu limiar de disparo atingido.

Mas, como toda essa circuitaria poderia contribuir para a percepção visual? Nurminen e Angelucci (2014) consideraram que as aferências do NGL seriam responsáveis por normalizar as respostas de V1 ao contraste local. Ressalta-se que frente a faixa limitada de resposta ao contraste dos neurônios de V1, a normalização do contraste possibilita aos neurônios lidar com a extensa quantidade de mudanças na luminância relativa presentes em uma cena assim como a sua variação de um ambiente a outro (Carandini & Heeger, 2012). As conexões laterais que contribuem com o componente seletivamente orientado da modulação supressiva nas proximidades da periferia do campo, CREC-próximo, exerceriam o papel de melhorar a eficiência da codificação de imagens naturais ao aumentar a parcimônia (*sparseness*) das respostas neuronal e reduzir suas dependências

estatísticas resultando na percepção de contornos presentes em uma cena. É interessante notar que em uma cena natural quanto mais próximas as suas linhas bem como a sua orientação, maior é a probabilidade pertencerem ao mesmo contorno. Modelos probabilísticos demonstraram que há uma alta dependência estatística entre linhas adjacentes dentro de uma imagem, o que corrobora com o princípio da boa continuação (*good continuation*) em que linhas vizinhas colineares (ou aproximadamente colineares) com orientações similares tendem a formar um contínuo, sendo percebidas como um contorno único (Field *et al.*, 1993; Simoncelli & Olshausen, 2001). Em contrapartida, as conexões de retroalimentação serviriam a função de salientar de alvos visuais direcionando o foco da atenção para porções contrastantes em uma cena, uma vez que essas conexões estão engajadas com o componente não-seletivo para orientação da modulação supressiva gerada por porções afastadas do campo (CREC-afastado).

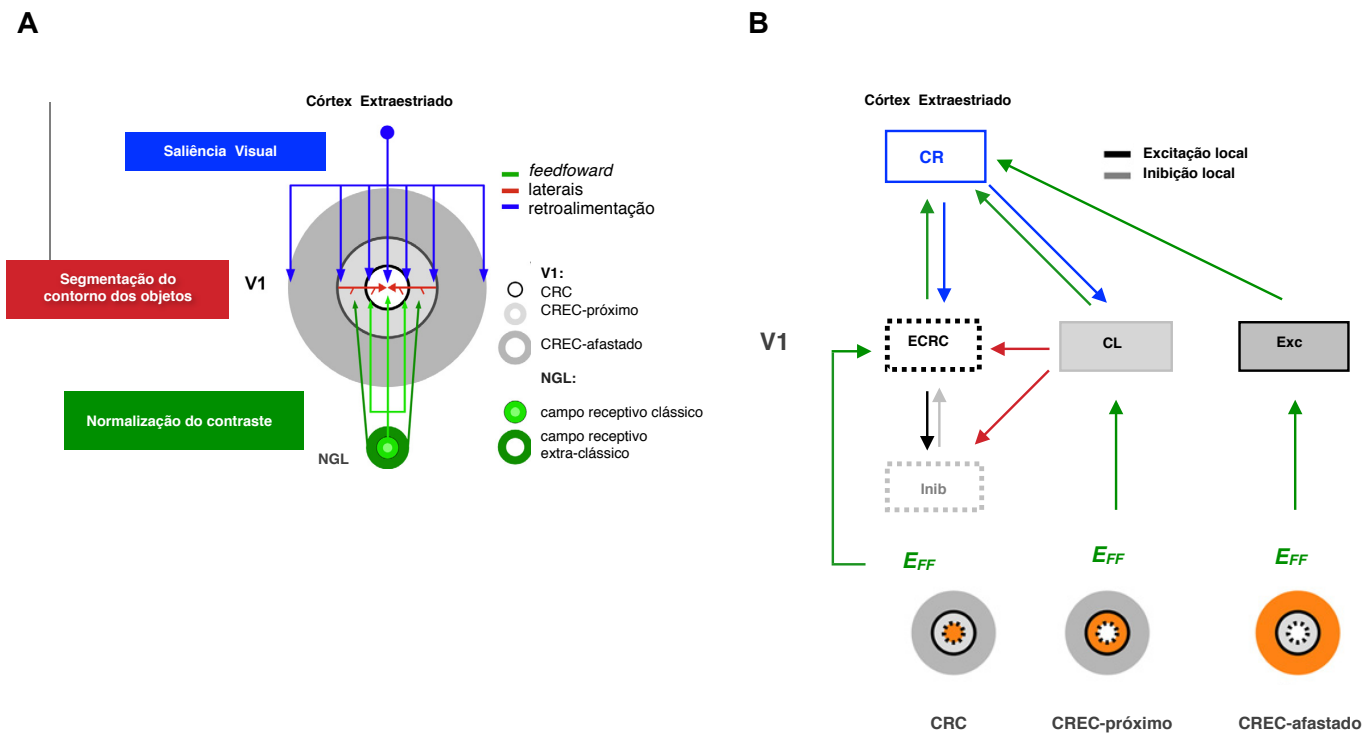


Figura 1.3. A - Os múltiplos componentes de modulação centro-contorno, seus circuitos subjacentes hipotéticos e funções. Setas coloridas indicam circuitos anatômicos (segundo a legenda) que supostamente engendram resposta evocada em CRC (área branca), e os diferentes componentes da periferia do campo dos neurônios em V1: CREC-próximo (anel de cinza claro) e CREC-afastado (anel cinza escuro). **B** - Diagrama do modelo de rede de interações recorrentes para modulação centro-contorno proposto por Schwabe e colaboradores (2010). Apenas as principais vias aferentes que afetam mais diretamente a resposta excitatória de CRC, aqui representado como ECRC, e neurônios inibitórios são mostradas. Os retângulos e setas representam as conexões descritas no texto: excitatória (Exc), inibitórias (Inib), *feedforward* (E_{FF}), laterais (CL), de retroalimentação (CR). As linhas pretas e cinzas representam conexões excitatórias e inibitórias locais, respectivamente. Ícones na parte inferior: diferentes componentes de CRC e CREC (como no painel A), com as áreas em laranja indicando os componentes que são ativados e os respectivos módulos da rede que respondem a essa ativação. Adaptada de Schwabe et al. (2010) e Nurminen & Angelucci (2014).

1.3. A coruja como animal experimental

Em todos os amniotas, o processamento visual acontece através de duas vias principais: a tálamo-fugal e a tecto-fugal, também chamadas lemnotalâmica e colotalâmica respectivamente. Nos mamíferos, a via lemnotalâmica inicia-se na retina, passa pelo núcleo geniculado lateral (NGL) e chega ao córtex visual primário (V1) do qual projeções para diversas áreas corticais visuais são

estabelecidas. Em contrapartida, a via colotalâmica parte da retina, passa pelo pulvinar do tálamo via colículo superior, e chega ao córtex extraestriado (Shimizu & Bowers, 1999; Livingstone & Hubel, 1988). A maior parte dos conhecimentos a respeito do sistema visual das aves foi obtida a partir de experimentos realizados em pombos, cuja via visual de maior importância é a colotalâmica (Shimizu & Bowers, 1999). Várias evidências comportamentais atestam que as aves têm excelente acuidade visual, visão de cores, habilidades de discriminação e memória visual (Cook, 2001). Dentre as aves, as corujas se destacam por ter grandes olhos frontais e visão binocular desenvolvida. Sendo assim, as corujas são conhecidas por suas habilidades visuais refinadas, pois exibem alto desempenho em tarefas de localização espacial, mesmo em condições de visibilidade desfavoráveis (van der Willigen *et al.*, 2002; Martin, 2007). Como nos mamíferos, o sistema visual das corujas apresenta a via talamofugal mais desenvolvida talvez em consequência da visão binocular (Shimizu & Bowers, 1999). Nas aves, essa via parte da retina, passa pelo núcleo geniculado lateral (NGL), o qual envia projeções para uma área telencefálica chamada wulst visual. Vale ressaltar que o wulst visual das corujas ocupa uma grande área do telencéfalo e pode ser considerado funcionalmente análogo ao córtex visual primário (V1) de carnívoros e primatas (Karten *et al.*, 1973; Pettigrew, 1979). Estudos realizados por nossa equipe corroboraram com esta idéia ao demonstrarem que neurônios do wulst visual são seletivos para orientação e seleção do movimento de maneira similar aqueles pertencentes ao V1 (Baron *et al.*, 2007). Além disso, a literatura apresenta alguns estudos caracterizando as habilidades visuais de corujas bem como os mecanismos neurofisiológicos que as sustentam como, por exemplo: sensibilidade ao contraste (Harmening & Wagner, 2009), acuidade (Martin & Gordon, 1974; Harmening & Wagner, 2007), percepção e codificação neural de contornos subjetivos (Nieder & Wagner, 1999), visão tridimensional e paralaxe (van der Willigen *et al.*, 2002), segmentação figura-fundo (van der Willigen *et al.*, 2003).

Muitos desses estudos foram realizados nas corujas suindaras (*Tyto alba*), espécie essencialmente noturna. Apesar de apresentarem características conspícuas tornando fácil o reconhecimento de um indivíduo da família Tytonidae, as corujas suindaras exibem uma grande diversidade de subespécies. Por meio da técnica de DNA barcoding, estudos mostraram que existe uma divergência significativa entre o DNA mitocondrial de corujas “tyto” pertencentes ao Velho e ao

Novo mundo. Sendo assim, recentemente as corujas *Tyto alba* foram consideradas pertencentes a dois clados : espécie *Tyto alba* e *Tyto furcata* de acordo com o isolamento geográfico (Velho e Novo Mundo, respetivamente) e diferenças genéticas (marcador molecular - gene *cox1*) (Nijman & Aliabadian, 2013; Colihueque *et al.* 2015). As corujas suindaras contam com notáveis habilidades visuais e auditivas para obter sucesso durante a caça (Harmening & Wagner, 2011a; Wagner *et al.*, 2013), sendo assim, são amplamente distribuídas ao redor do mundo, a despeito das fortes pressões ecológicas sob as quais sobrevivem. Portanto, ser um excelente predador é crucial para a sobrevivência desses animais, uma vez que não apresentam grande quantidade de reserva adiposa, sucumbindo rapidamente quando em situações de escassez de alimento (Wagner *et al.*, 2013). Praticamente desprovidas de movimentação ocular, < 2 graus (Steinbach & Money, 1973), as corujas *Tyto alba* se beneficiam do variado repertório de movimentação de cabeça quando em forrageio (Fux & Eilam, 2009a). Esses movimentos servem para calcular a distância em que a presa se encontra (movimento paralaxe) bem como não perder o animal de vista. As corujas suindaras capturam suas presas quando estas não estão mais em movimento, logo um animal imóvel, muitas vezes em *freezing*, acaba por confundir a visão do predador, podendo ela até mesmo desaparecer do campo visual em função mecanismo de adaptação da retina (Fux & Eilam, 2009b). Portanto, mesmo após detectarem a caça, acredita-se que as corujas continuam exibindo movimentos de cabeça para impedir que a sua imagem se estabilize na retina.

Ainda há uma importante função, essencial para sobrevivência dessa espécie, vinculada aos movimentos de cabeça que não podemos deixar de destacar : a orientação do olhar. As movimentações da cabeça que promovem a orientação do olhar são altamente necessárias para detectar possíveis alvos de maneira rápida e eficaz. Valendo-se dessa dependência (orientação do olhar e movimentação da cabeça), experimentos instigantes foram conduzidos afim de melhor compreender a saliência visual, atenção exógena bem como desvendar seu substrato neurológico em corujas (Ohayon *et al.*,2008; Harmening *et al.*, 2011b; Orłowski *et al.*, 2015). Esses trabalhos utilizaram uma câmera leve fixada na cabeça da coruja (Figura 1.4 - A) para investigar o comportamento de busca visual, haja vista que as corujas suindaras quase não apresentam movimentação ocular. Um desses experimentos (Figura 1.4 - B) consistiu em apresentar barras no chão

da sala experimental onde uma delas era diferentemente orientada em relação as outras. Dentro dessa sala, a coruja podia olhar livremente para o ambiente em sua volta. Como resultado, foi demonstrado que as corujas orientaram o olhar para o alvo (barra com orientação diferente) mais vezes, o fixaram por mais tempo assim como olharam primeiro para o alvo. Nesse estudo, Harmening e colaboradores (2011b) revelaram que a coruja *Tyto alba* exibe um comportamento de busca visual similar a humanos, evidenciando que saliência visual e o mecanismo *bottom-up* está presente nessas aves. Em 2015, testes psicofísicos realizados por Orłowski e colaboradores confirmaram a existência do efeito *pop-out* (saliência visual) em corujas suindaras ao mostrarem que o tempo de busca e o número de sacadas de cabeça até fixarem o alvo independe do número de distratores (número de barras) presentes em uma cena. Por outro lado, em uma abordagem eletrofisiológica, Zahar e colaboradores (2012) evidenciaram que a saliência visual para orientações contrastantes provavelmente não é processada pelos neurônios do teto óptico das corujas *Tyto alba*. Ressalta-se que o teto óptico é uma região multimodal altamente relacionada com comportamentos orientados que são governados tanto pela saliência visual como pela saliência auditiva (Knudsen, 1982; Reches & Gutfreund, 2008). Consequentemente, concluiu-se que o processamento da saliência visual em corujas deve ocorrer em outra região do cérebro.

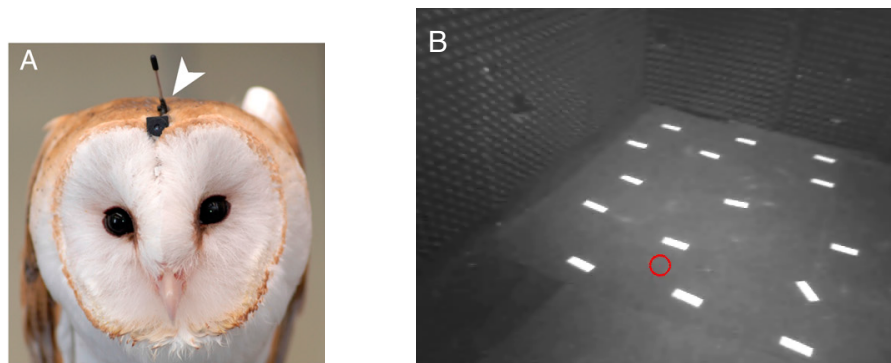


Figura 1.4. **A** - Foto da coruja com câmera acoplada a sua cabeça apontada pela seta branca. **B**- Imagem dos estímulos posicionados no chão da sala experimental. Observe que somente uma das barras apresenta orientação diferente das outras. Círculo vermelho ponto de fixação do olhar do coruja naquele instante. Adaptado de Harmening et al. 2011.

O wulst visual apresenta alguns indícios de que esteja engajado no processamento de alguns tipos de saliência visuais, como por exemplo a saliência para orientação. Além de possuir neurônios seletivos para orientação assim como

sua semelhança com V1 (Pettigrew & Konishi, 1976; Liu & Pettigrew, 2003; Baron *et al.*, 2007; Pinto & Baron, 2009, 2010) os neurônios do wulst respondem a contornos subjetivos (Nieder & Wagner, 1999). Isso sugere que o wulst visual é capaz de promover processamento de contornos, mecanismo importante para a segmentação de objetos em uma cena (Nieder, 2002).

Vários trabalhos apontam a importância da modulação centro-contorno como mecanismo neuronal subjacente a percepção do contorno de objetos e de atributos que se destacam em uma cena (saliência visual) (Nieder & Wagner, 1999; Schmid & Victor, 2014; para revisão Seriès *et al.*, 2003). É importante salientar que algumas especificidades da modulação contextual em corujas buraqueiras já foram abordadas em um estudo oriundo de nossa equipe, mostrando que a modulação supressiva ocorre no wulst visual (Turchetti-Maia, 2011). Tendo em vista isso, o escopo deste trabalho é investigar o efeito do contexto em função do contraste local em neurônios do wulst visual da coruja *Tyto furcata*, espécie até pouco tempo conhecida como *Tyto alba*.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

A modulação centro-contorno é uma propriedade característica de V1 demasiadamente investigada por diversas áreas, todavia, ainda não é bem claro como esse processamento acontece. O wulst visual é uma área proeminente do telencéfalo das corujas que apresenta propriedades fisiológicas e hodológicas similares ao córtex visual primário de mamíferos, porém não sabemos até que ponto essas semelhanças prevalecem ao longo do processamento visual como um todo. Neste trabalho buscamos investigar o efeito do contraste local na modulação contextual dos neurônios do wulst visual das corujas *Tyto furcata*, para tanto primeiramente exploramos o comportamento da resposta desses neurônios a diferentes níveis de contraste acromático.

2.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar as respostas dos neurônios do wulst visual ao contraste local;
2. Avaliar o efeito da organização espacial do estímulo na modulação centro-contorno, no que concerne a estímulos iso-orientados e ortogonais;
3. Avaliar o efeito do contraste local na modulação centro-contorno;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Cuidados com os animais

Os dados obtidos nesse trabalho foram gerados a partir de experimentos realizados em corujas suindaras (*Tyto furcata*). As aves utilizadas são mantidas em um aviário localizado nas dependências do ICB-UFMG em frente ao Laboratório de Neurodinâmica. Os aviários são cadastrados no IBAMA como *Criadouro Científico de Fauna Silvestre para Fins de Pesquisa*. Todos os cuidados necessários para manutenção dos animais foram tomados, dentre eles podemos destacar: alimentação equilibrada (roedores e suplementos vitamínicos), controle de ectoparasitas e controle de peso. Os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, UFMG (CETEA, licença 53/2011, vide ANEXO I) . A manutenção e uso das corujas são autorizados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) por intermédio do Centro de Triagem Animal de Belo Horizonte (CETAS/BH), através da licença de nº 02015.004197/03 sob responsabilidade do Prof. Jerome Baron.

3.2. Procedimentos cirúrgicos

Antes de serem selecionadas para fazerem parte dos experimentos, as corujas passam por período de adaptação no laboratório. Para tanto técnicas padrão de falcoaria foram adotadas, possibilitando que as corujas ficassem confortáveis a medida que se habituavam ao ambiente do laboratório e as manipulações. Esse período variou de indivíduo para indivíduo, em média três semanas. Após esse período, os animais foram submetidos à cirurgia de implante da câmara de registro, a qual consisti em um pequeno cilindro metálico com um diâmetro interno de 10 mm, altura de 8 mm, espessura de 1,5 mm e massa de 1 g (~ 0.7% do peso do animal). A função da câmara de registro é imobilizar a cabeça do animal e dar acesso à craniostomia durante os registros eletrofisiológicos. A cirurgia para implante dessa câmara foi realizada sob anestesia geral utilizando Zoletil® 50 (uma mistura de 1:1 de tiletamina e zolazepam, Virbac, Carros, França), administrado por via intramuscular em uma dose de 16 mg/kg (e meia dose para manutenção). Após a perda dos reflexos, o crânio foi exposto através de uma incisão na pele com 25 a 30 mm de comprimento, e a posição da craniostomia foi

marcada sobre a superfície óssea de acordo com coordenadas estereotáticas definidas em nosso laboratório. De acordo com as medidas estereotáticas a câmara foi devidamente posicionada e fixada ao crânio com resina odontológica (Vitro Fil®, DFL, Rio de Janeiro, Brasil) o que permite a entrada dos eletrodos perpendicular ao cérebro. Para melhor fixar a câmara de registro algumas ranhuras foram feitas no crânio antes da fixação da câmara. Ao final do procedimento foi realizada uma craniostomia circular (diâmetro aproximado de 3 mm) no centro do cilindro, a qual dava acesso à área de interesse (wulst). As cirurgias tiveram duração média de 2 horas e foram realizadas sobre condições assépticas. Após cada cirurgia, foram administrados, intramuscularmente, um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil) e um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen® 1%, Merial, São Paulo, Brasil). Para prevenir o desenvolvimento de fibrose na dura-máter, foi aplicada topicamente uma gota de Nepodex® (Latinofarma, São Paulo, Brasil), um colírio que associa um corticoide (dexametasona 1mg/mL) com antibióticos (neomicina mg/mL e polimixina B 6000UI/mL). Da mesma forma, essa aplicação tópica era realizada após cada sessão de limpeza da craniostomia. Após a cirurgia os animais passaram por um período de recuperação de pelo menos dois dias.

3.3. Registros eletrofisiológicos extracelulares:

3.3.1. Sedação

Durante todo o registros eletrofisiológicos, os animais foram mantidos sob estado de sedação. A indução anestésica foi realizada por administração de uma pequena dose de isoflurano através de um vaporizador não-calibrado. O período de 30 s mostrou-se suficiente para que o animal entrasse em estado temporário de inconsciência e dessa maneira pudesse ser manipulado. Nesse momento alguns sinais como perda do reflexo de retirada e diminuição da frequência cardiorespiratória foram utilizados para certificarmos que pudéssemos seguir adiante. É importante salientar que a sedação não suprime o reflexo da membrana nictitante não havendo, pois, a necessidade de colocar lentes de contato. Logo, somente fitas adesivas foram cuidadosamente colocadas sobre a pálpebra do animal para que seus olhos se mantivessem abertos durante o registro. Acrescenta-se ainda que óxido nitroso foi administrado para manutenção da

sedação do animal, sendo este um tipo de sedação leve que permite um despertar quase imediato após sua interrupção (≈ 50 s).

3.3.2. Registro dos sinais neuronais

Os registros eletrofisiológicos foram realizados com um dispositivo multieletrodo desenvolvido no Instituto Max-Planck pelo Dr. Sergio Neuenschwander e mostrado na figura 3.1. Os eletrodos ($n = 2-3$; Thomas Recording, Alemanha; diâmetro do corpo: $80 \mu\text{m}$; diâmetro da ponta: $\approx 2 \mu\text{m}$) foram montados dentro de microtubos guia equidistantes e cada um deles foi acoplado a micromanipuladores hidráulicos de precisão (Narishige, Japão). Esse dispositivo permite a aquisição simultânea do sinal de múltiplas células em diferentes sítios de registro durante a sessão experimental devido ao posicionamento preciso e independente de seus eletrodos. O dispositivo é preso ao cilindro de registro por meio de um adaptador metálico parafusado a ele e mantido estável por um braço metálico para minimizar os movimentos relativos entre os eletrodos e a cabeça do animal. O sistema em questão já foi utilizado em outros estudos (Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron 2009, 2010), e proporciona uma excelente estabilidade de registro.

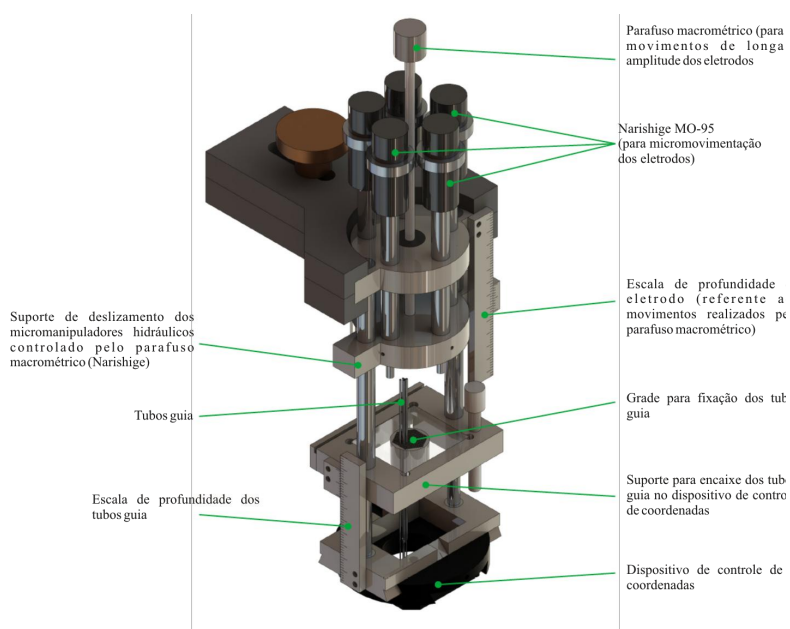


Figura 3.1. Representação esquemática do dispositivo multieletrodo baseado nos micromanipuladores hidráulicos e uma mesa X-Y para controle de coordenadas (partes do kit MO-95, Narishige, Japão). Projetado por Sérgio Neuenschwander no Instituto *Max-Planck for Brain Research*, Frankfurt, 2005. Simulação realizada por Heitor de Oliveira, Instituto do Cérebro – UFRN, Natal. Cortesia do Dr. Sergio Neuenschwander.

Os sinais da atividade neuronal captados pelos eletrodos foram amplificados (x10000) e filtrados (Headset HST/16o25, Caixa pré-amplificadora de 32 canais, Plexon Inc., Texas). A figura 3.2 mostra o esquema geral do aparato experimental utilizado durante os registros. As informações captadas pelos dispositivos internos da cabine experimental são encaminhadas a diferentes dispositivos de processamento. Primeiramente, o sinal proveniente dos eletrodos é amplificado e filtrado através de um pré-amplificador (Plexon®, Texas, USA). Do pré-amplificador, o sinal neuronal condicionado segue para duas caixas de conexão onde diversos tipos de sinais (E/S digital codificando cada condição experimental, TTL para disparar a aquisição) são centralizados antes de serem enviados ao computador de aquisição (Alba PC), responsável por digitalizar e armazenar os dados. Um segundo computador é responsável por apresentar os protocolos experimentais (Tyto-2 PC) e por encaminhar o sinal TTL utilizado para sincronização entre os dispositivos (sistemas de aquisição de imagem e o sistema de registro eletrofisiológico). Esse último computador ainda é responsável pelo envio das informações referentes aos protocolos experimentais que serão apresentados, como por exemplo, o tipo de estímulo e o tempo de apresentação. O computador de estimulação visual é ainda controlado por outro terminal (Pulsatrix PC) para a realização do controle geral do experimento, o qual envolve o mapeamento manual dos campos receptivos dos neurônios e o controle da apresentação dos protocolos experimentais. Por fim, todos os dados adquiridos durante um registro são armazenados em um quinto computador (Glaucidium PC) para análise posterior. A interconexão entre computadores é realizada por meio de uma rede local baseada em uma arquitetura ethernet. Esse sistema permite extrair dois tipos de sinal extracelular durante o registro: um sinal multiunitário, proveniente de neurônios isolados (filtrado na faixa de 0,7kHz – 7kHz); e o potencial de campo local (LFP, filtrado na faixa de 1kHz – 170kHz), proveniente de oscilações no potencial de membrana de uma população de neurônios em torno do eletrodo. Sendo o último não analisado ainda no presente trabalho. A digitalização do sinal foi realizada com uma frequência de amostragem de 32 kHz, por uma placa A/D de 16 bits de resolução, com recursos de trigger e timer (PCI-6259, National Instruments, Austin, Texas, EUA). Os dados foram adquiridos, processados e armazenados em um PC AMD Athlon de 2 GHz, sobre o controle do sistema de programas computacionais SPASS, implementado em LabView (National Instruments, Texas, EUA),

desenvolvido no Instituto *Max-Planck for Brain Research* em Frankfurt, pelo Dr. Sergio Neuenschwander.

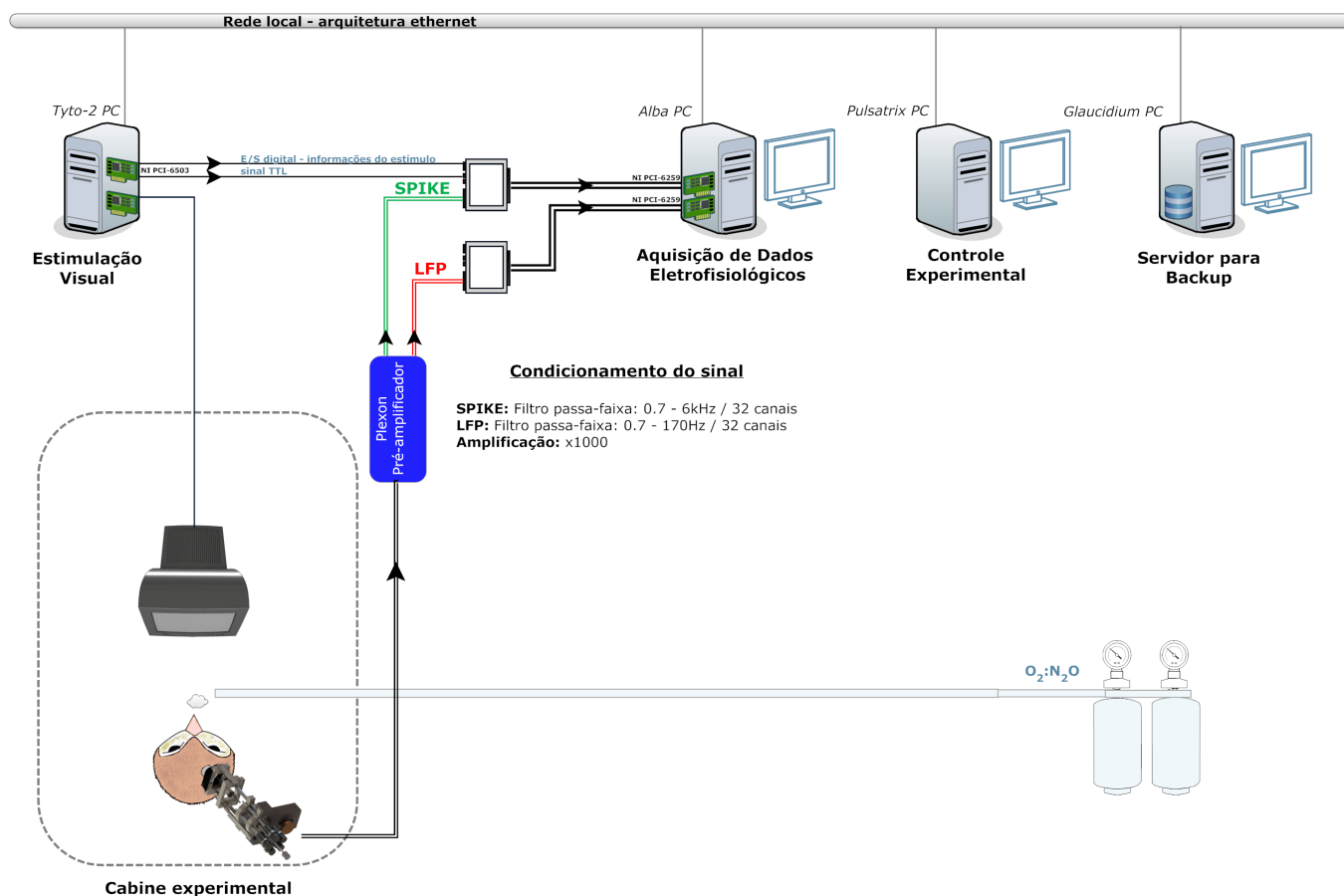


Figura 3.2. Visão geral do setup experimental. Todos os dispositivos utilizados para aquisição de dados (aquisição de imagem e registro eletrofisiológicos) são sincronizados via sinal TTL. A interconexão entre computadores é feito por meio de uma rede local.

3.4. Estimulação visual

Dois tipos de estímulos visuais foram adotados: grades senoidais circulares e *gabors*. Vale a pena ressaltar que estímulos do tipo *gabors* são criados a partir da multiplicação de uma função senoide e uma função gaussiana. O envelope gaussiano tem como efeito a atenuação das bordas das grades senoidais. Além disso, muitos laboratórios dedicados ao estudo sobre sistema visual utilizam *gabors* como estímulos, pois os mesmos apresentam propriedades aproximadas as do campo receptivo de neurônios do córtex visual primário.

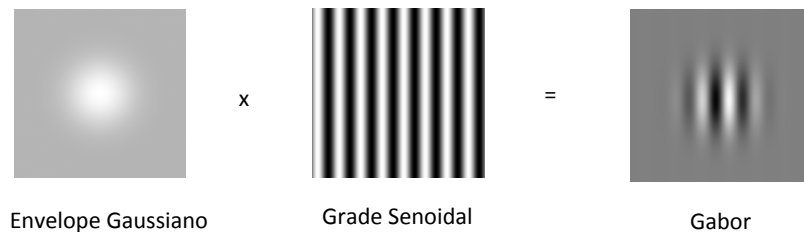


Figura 3.3. Imagem do estímulo gabor formado a partir da multiplicação de uma função gaussiana e uma grade senoidal. Observe que o gabor apresenta as bordas atenuadas bem como fase, orientação, frequência espacial e localização bem definidas. Adaptada de Bruce et al., Visual perception pag. 464.

Ambos estímulos foram apresentados em um monitor CRT analógico de 19 polegadas (Samsung SyncMaster 955DF), com uma resolução de 1024 x 768 pixels e uma taxa de renovação de quadros de 100 Hz, sendo a coruja posicionada a 57 cm de distância do monitor. As medidas de luminância do monitor para a correção gama foram realizadas com colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Inglaterra). Para realizar essa correção, primeiro foi medido a luminância de vários tons da escala de cinza (52 tons, variando de 1 a 256 em passos de 5) produzidos pelo monitor, utilizando o medidor de luminância ColorCal (Cambridge Research Systems, UK). Em seguida, as medidas foram plotadas e uma função de ajuste matemático foi calculada ($y=x.gama$; onde x = tons da escala de cinza e y = valores de luminância para cada tom) estimando-se assim, o valor de gama (Fit Toolbox do Matlab, MathWorks, USA). Uma vez calculado o valor gama, gerou-se uma função inversa ($y=x1/gama$) a partir da qual foi gerada uma nova tabela de cores. O efeito final foi uma relação linear entre cor e luminância, já que as funções inversas do monitor e da tabela de cores se anulam. Medidas fotométricas foram realizadas rotineiramente com o medidor de luminância a fim de verificar a estabilidade da calibração do monitor. Os estímulos foram preparados como sequências de imagens bitmap, apresentadas com grande exatidão temporal, pelo pacote ActiveStim (www.activestim.com). Essa exatidão temporal foi constantemente verificada através de um dispositivo construído no laboratório que capta mudanças de intensidade luminosa do monitor por meio de uma fotocélula, o qual converte a intensidade luminosa em tensão. Importante ressaltar que a fotocélula utilizada possui um comportamento linear na conversão de intensidade luminosa em tensão. Por meio desse dispositivo foi possível verificar a precisão na apresentação de cada condição dos protocolos experimentais utilizados neste trabalho.

3.4.1. Mapeamento dos campos receptivos

Uma vez que um neurônio visual foi encontrado e o seu sinal isolado de outras células, realizou-se um pré-processamento dos dados em tempo real por meio de uma triagem baseada na amplitude e formato de onda do potencial de ação. Primeiramente, o mapeamento dos campos receptivos (local e tamanho) baseou-se no método de campo de resposta mínima (*minimum response field (mRF)*, Barlow *et al.*, 1967), o qual é definido como a área do campo visual onde estímulos (manuais ou controlado por computador) como pontos e barras luminosas de várias orientações evocam disparos neuronais em uma taxa que excede aquela da atividade espontânea da célula.

Mais especificamente, o protocolo nomeado GASTC foi utilizado para determinar o tamanho do campo receptivo clássico de forma mais precisa, haja vista que critério mRF muitas vezes propicia uma medida subestimada do campo. Nesse protocolo, o tamanho das grades senoidais em movimento na direção preferida da célula, variavam o seu diâmetro entre (0.4 a 21 graus de ângulo visual). O diâmetro do estímulo correspondente ao pico do curva de resposta foi adotado como tamanho do campo. Além disso, o GASTC também serviu a caracterização da modulação centro-contorno dos neurônios do wulst visual.



Figura 3.4. Protocolo GASTC. Grandes senoidais em movimento variando de tamanho

O mapeamento foi realizado separadamente para os olhos ipsilateral e contralateral, permitindo a determinação da dominância ocular do campo receptivo. Aquele mais responsivo era escolhido para apresentação dos protocolos experimentais, sendo o outro olho era encoberto por uma venda. Logo, a partir daí a estimulação passava a ser realizada de forma monocular. O olho não vedado era observado através de uma câmera dentro da cabine experimental, auxiliando também o processo de monitoramento das possíveis oscilações no estado de sedação da coruja.

Após mapeamento do campo receptivo, os estímulos do tipo grades senoidais circulares foram utilizados para caracterização inicial das propriedades fundamentais neurônio. As grades senoidais variavam quanto ao tamanho, frequência espacial, frequência temporal, fase, orientação e direção do movimento.

Destaca-se que apesar de descrito brevemente, que cada um dos protocolos de caracterização eram de suma importância para a continuidade da sessão experimental sendo alguns deles analisados qualitativamente e outros *offline*.

3.5. Protocolos experimentais

Para o estudo do efeito da organização espacial do estímulo e do contraste local na modulação contextual foram apresentados estímulos estáticos do tipo *gabor* do mesmo tamanho do campo receptivo (CRC, *gabor-central*). A orientação, fase e frequência espacial do *gabor-central* foram fixadas conforme a preferência da célula para tais atributos. Dentro do mesmo protocolo, os flaqueadores eram apresentados no mesmo eixo de orientação do *gabor-central* (Figura 3.5-D) em diferentes posições (zona terminal ou zona lateral Figura 3.5-E) e diferentes orientações (colinear, iso-orientado e ortogonal em relação a orientação do *gabor-central*, Figura 3.5-F). Para todas as combinações possíveis, os valores de contraste do *gabor-central* variavam entre 0 e 90%: 13 valores de contraste (0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%). Entretanto, o valor de contraste dos *gabors* flaqueadores foi fixado em 90% (valor máximo de contraste adotado). O primeiro protocolo, chamado *End_Near_Co_Ort*, consistiu em apresentar o *gabor-central* dentro de CRC sem a presença dos flaqueadores (condições somente em CRC - Figura 3.6-A,B) e com a presença de dois flaqueadores (condições CRC + flaqueadores - Figura 3.5-D) bem próximos ao *gabor-central* na zona terminal. Cada protocolo era apresentado de forma randômica perfazendo 39 condições com 10 repetições cada: 13 condições para *gabor-central* (somente CRC), 13 condições para *gabor-central* + flaqueadores colineares dispostos na zona terminal, 13 condições para *gabor-central* + flaqueadores ortogonais também posicionados na zona terminal.

O segundo protocolo, nomeado *Side_Near_Co_Ort*, foi apresentado da mesma forma, porém a posição dos flaqueadores era trocada para zona lateral.

Afim de assegurar que os três gabors fossem aproximados de forma maximal nos os protocolos em que os flaqueadores eram colocados perto do gabor-central (End_Near_Co_Ort e Side_Near_Co_Ort) a distância entre o centro do gabor-central e o centro do flaqueador apresentava o mesmo valor que o diâmetro do gabor-central (veja Figura 3.6). É importante destacar que em todos os protocolos existia a condição controle, a qual consistia na apresentação dos flaqueadores ortogonais e colineares sem a presença do gabor-central (Figura 3.5-C). Essas condições foram de suma importância para confirmação da estabilidade da posição do campo receptivo do neurônio registrado, pois parte do princípio que tão logo CRC não seja diretamente estimulado e sua periferia assim o seja (presença dos flaqueadores), o neurônio em questão não exibe resposta evocada. Logo, em todas as análises que envolveram o estudo do contexto as respostas dos flaqueadores sem a presença do gabor-central (i.e. gabor-central 0% de contraste) foram comparadas com a condição contraste 0%. Sendo assim, as células que apresentavam diferença estatística significativa eram excluídas da análise. Reitera-se que para cada repetição os estímulos eram apresentados por 1000 ms com 2100 ms de intervalo entre eles.

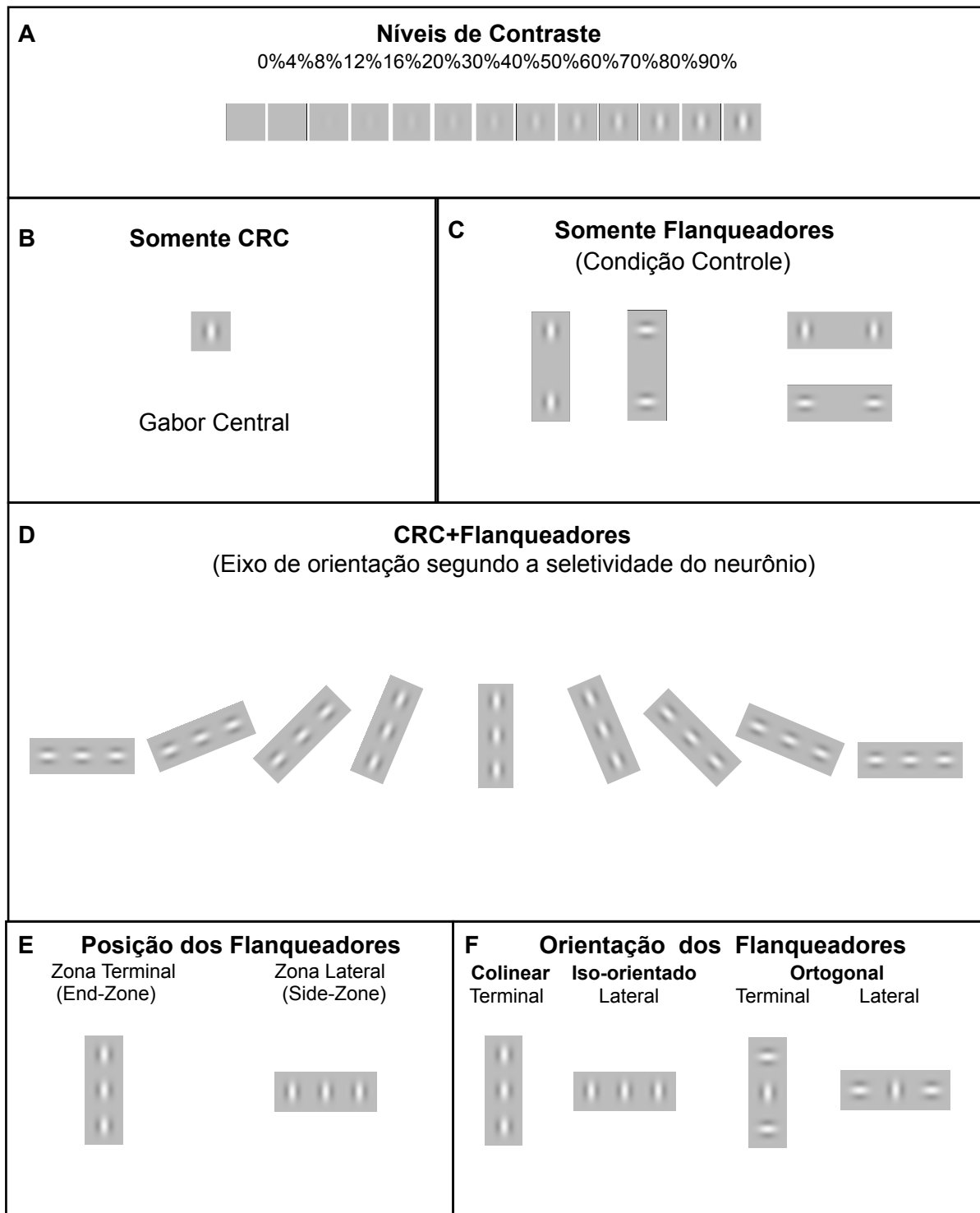


Figura 3.5. Organização espacial dos gabors. **A-** Diferentes níveis de contraste utilizados na estimulação de CRC. **B-** Gabor-central representando as condições em que o estímulo era apresentado somente em CRC. **C** - Condição controle, em que os gabors eram posicionados fora de CRC (CRC 0% de contraste). **D-** Oito possibilidades para eixo de orientação escolhido conforme preferência do neurônio registrado, sendo o mesmo eixo utilizado em todos os protocolos para esse neurônio. **E-** Posição dos flanqueadores na zona terminal (protocolos End_Near_Co_Ort) e zona lateral (protocolos Side_Near_Co_Ort). **F-** Orientação dos flanqueadores dentro de um mesmo protocolo colinear, iso-orientado e ortogonal.

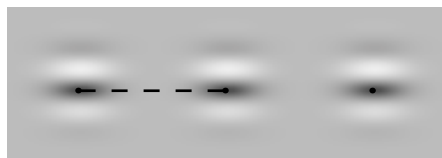


Figura 3.6. Distância entre o gabor-central e os gabors flancos. A linha tracejada refere-se à distância centro a centro cujo valor corresponde ao diâmetro do gabor-central. Observe que as bordas atenuadas pelo envelope gaussiano dão a impressão que os limites dos gabors são menores e que por isso eles parecem estar mais distantes do que realmente estão.

3.6. Análise de dados

Os dados foram analisados realizadas por meio de programas computacionais implementados em LabView (National Instruments, EUA) e Matlab (MathWorks, EUA).

3.6.1. Separação dos potenciais de ação (*Spike sorting*)

Os registros dos potenciais de ação dos neurônios isolados foram submetidos a um procedimento conhecido como *spike sorting*, usado para separar os potenciais de ação com base nas diferenças das formas de onda adquiridas. Formas de onda provenientes de uma mesma célula tendem a ser semelhantes e por isso tendem a ocupar posições próximas em um espaço paramétrico, formando aglomerados bem definidos. Essas semelhanças são definidas quanto às características das formas de onda, como a amplitude do pico, vale e largura. Neste trabalho, foi utilizado o programa chamado SpikeOne, desenvolvido por Nan-Hui Chen, já utilizado em vários estudos (Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009, Pinto e Baron, 2010). Esse programa utiliza o algoritmo de *dynamic template matching*. Tal algoritmo gera modelos de ondas baseado em vários parâmetros, e associa cada potencial de ação a um modelo, que é dinamicamente computado por uma rede neural artificial. A separação dos potenciais de ação foi realizada de forma semi-automática. Primeiramente, foi permitido ao programa encontrar automaticamente as unidades e em seguida, passou-se ao modo manual, na qual o experimentador pode agrupar ou não as classes de potenciais de ação encontradas pelo algoritmo. Para garantir a qualidade da separação, foram utilizados alguns indicadores disponibilizados no programa, dentre os quais podemos citar: um bom agrupamento de escores da análise de componente principal; a não violação de um período refratário absoluto estipulado em 2 ms, segundo verificado no histograma de intervalo interdisparo; e a

estabilidade da amplitude e largura do potencial de ação no decorrer do tempo. Somente os agrupamentos de potenciais de ação que passaram pelos critérios de boa qualidade de separação foram utilizados nas análises posteriores.

3.6.2. Critérios de exclusão

Dois critérios de exclusão foram adotados a fim garantir a confiabilidade dos resultados. O primeiro deles foi avaliado por meio do teste Wilcoxon signed-rank, com intuito de validar se a resposta máxima da célula era estatisticamente maior do que a atividade espontânea, e por consequência se era capaz de induzir uma resposta evocada estatisticamente confiável. O segundo critério, utilizou-se do teste de Kruskal-Wallis, verificou-se se a célula respondia mais para determinadas condições do que outras, ou seja, se havia modulação da resposta para pelo menos uma condição. Apenas aquelas células que satisfizeram os dois critérios seguiram para as análises futuras.

3.6.3. Análises iniciais

Após o procedimento de separação dos potenciais de ação, a resposta de cada unidade isolada foi convertida em histogramas de tempo periéstímulo (PSTH) com um bin de 20 ms.

A seletividade para direção foi avaliada por meio de um índice de direcionalidade:

$$ID = 1 - \frac{R_{anti} - R_{spont}}{R_{pref} - R_{spont}}$$

onde R_{pref} e R_{anti} representam, respectivamente, a resposta na direção preferida e da anti-preferida, relativas à atividade espontânea R_{spont} . Baseado nesse índice, as células foram classificadas como direcionais $ID \geq 0.5$ ou bidirecionais $ID < 0.5$.

De acordo com Ledgeway *et al.*, (2005) adotou-se dois índices para quantificar o grau de monotonicidade da resposta neuronal em função do contraste e mensurar o nível de saturação da resposta em altos contrastes. Sendo índice de monotonicidade (IM) definido como:

$$IM = 1 - \frac{R_{max} - R_{Cmax}}{R_{max} - R_{spont}}$$

onde, R_{max} corresponde a resposta máxima do neurônio, R_{Cmax} corresponde a taxa de disparo na condição de contraste máxima testada (tipicamente 90%) e R_{spont} representa a atividade espontânea da célula. Esse índice é inversamente proporcional ao grau de comportamento não monotônico exibido por uma célula em resposta ao contraste, variando de 1, para células com uma resposta monotônica, até 0 para células em que taxa de disparo no contraste máximo é igual à da atividade espontânea. Em um comportamento tipicamente monotônico à medida que o contraste aumenta a resposta da célula também aumenta.

O índice de saturação (IS) foi definido como:

$$IS = \frac{R_{Cmax} - R_{C50}}{R_{max}}$$

onde, R_{C50} corresponde a resposta a um gabor com contraste igual a 50%. O IS apresenta valores positivos para um aumento monotônico da resposta com baixa saturação e valores negativos para respostas não monotônicas. Para células que apresentam uma saturação assintótica (valores em y passam a ser bem próximos), IS é igual a zero.

3.7. Ajuste das curvas

Um dos objetivos deste trabalho foi buscar um modelo que melhor descrevesse as respostas ao contraste dos neurônios amostrados a fim de

capturar pontos críticos da curva de resposta que poderiam sofrer alguma alteração com a presença do contexto. Em nosso laboratório, foi realizado um estudo de descrição das respostas ao contraste no wulst visual de corujas buraqueiras, espécie diurna-crepuscular, Vieira *et al.*, (2016). Portanto, realizaremos a comparação desses mesmos modelos, agora investigando respostas de neurônios da coruja suindara, espécie de hábito majoritariamente noturno. Tendo em vista isso, foram adotados os quatro diferentes modelos (exemplo Figura 3.7), definidos como:

Linear: $R(C) = a+b*C$;

Logarítmico: $R(C) = a+b*\log_{10}(C)$;

Potência: $R(C) = a*C^b$;

Taxa hiperbólica: $R(C) = R_{max} * C^n / (C_{50}^n + C^n)$.

onde, $R(C)$ se refere à resposta neuronal em função do contraste e a , b , C_{50} , R_{max} e n são parâmetros livres.

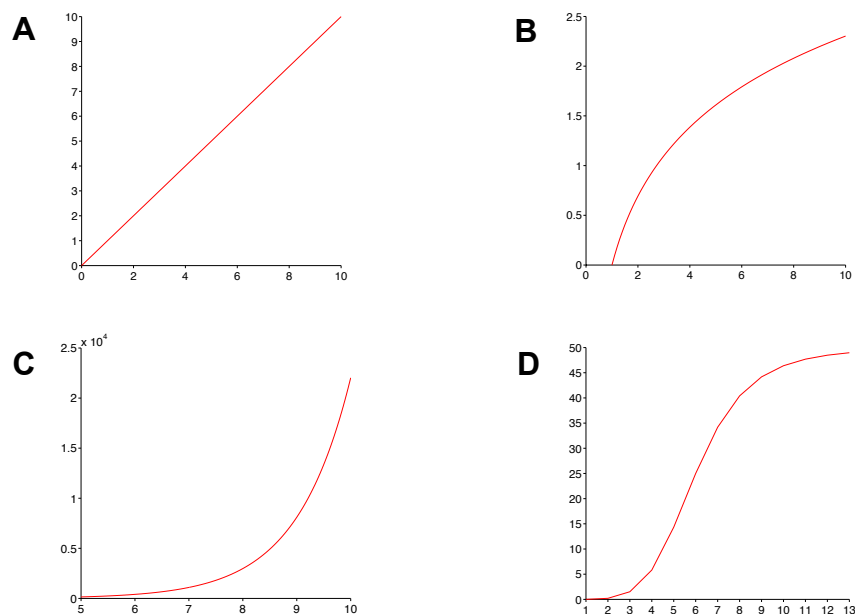


Figura 3.7. Representação do perfil das curvas de cada modelo: **A-** Modelo linear: os valores das coordenadas x e y (eixo das abscissas e ordenadas, respectivamente) aumentam proporcionalmente. **B-** Modelo logarítmico: caracterizado por função logarítmica crescente onde há um aumento rápido em baixos valores de x e lento em altos valores. **C** - Modelo Potência: descrito como uma função exponencial crescente com aumento lento em baixos valores de x e um aumento rápido em altos valores. **D** - Modelo Taxa Hiperbólica: ocorre um aumento lento em baixos valores de x (porção expansiva da curva) um aumento rápido em valores intermediários de x (aumento linear) e um aumento lento quase nulo em altos valores de x (compressão da curva).

Os modelos foram ajustados aos dados de cada neurônio por meio do método não linear dos mínimos quadrados, utilizando-se o algoritmo de região de confiança implementado no *Curve Fitting Toolbox* do Matlab (MathWorks, Natick, MA, USA). O procedimento de ajuste de curvas foi realizado utilizando-se valores de mediana, computados sobre todas as repetições associadas a cada uma das condições de contraste. Boa parte dos dados não apresentam uma distribuição normal, por isso a escolha da mediana com medida de tendência central. Além disso, foi calculado o valor de contraste em que o perfil da resposta deixa de seguir a lei de potência dando lugar a um aumento linear. Analiticamente, C_i é calculado da seguinte maneira:

$$C_i = C_{50}^n \sqrt{\frac{n-1}{n+1}} \quad n > 1$$

onde, C_{50} é o valor de contraste que evoca 50% da resposta e n é o valor da inclinação da curva de ajuste obtido a partir do modelo hiperbólico (ver Duong e Freeman, 2008).

A qualidade do ajuste por modelo foi fornecida pelo coeficiente de determinação R^2 :

$$R^2 = 100 \left(1 - \frac{SS_{ajuste}}{SS_{total}} \right)$$

onde, SS_{ajuste} corresponde a soma dos quadrados dos resíduos extraídos pelo ajuste e SS_{total} é a soma dos quadrados da diferença entre cada valor da regressão e a média desses valores. Os valores de R^2 então computados foram submetidos ao teste F para avaliar sua relevância estatística. Essa medida estatística foi utilizada como critério de exclusão somente quando a hipótese nula não pôde ser rejeitada para os quatro modelos investigados.

3.8. Seleção do modelo

Existe um problema ao utilizar unicamente medidas de qualidade de ajuste para comparar diferentes modelos, uma vez que o número de parâmetros livres de cada modelo não é o mesmo ($n = 2$ para linear, potência e logarítmico; $n = 3$ para o modelo hiperbólico). É sabido que quanto maior a complexidade de um modelo maior é a sua capacidade de se ajustar aos dados. Todavia, modelos que apresentam muitos parâmetros livres tendem a diminuir seu poder de generalização. Além disso, essa alta capacidade acaba por acomodar dados não representativos (ruídos) da amostra na curva de ajuste, chamado ajuste excessivo (*overfitting*).

Buscando um equilíbrio entre a precisão do ajuste e a complexidade do modelo (número de parâmetros livres), Hirotugu Akaike (1974) desenvolveu o método estatístico intitulado Critério de Informação de Akaike (AIC). O AIC estabelece um contrapeso entre a qualidade do ajuste e o número de parâmetros livres de cada modelo matemático em concordância com o princípio da parcimônia. No que concerne a parcimônia, o melhor modelo corresponde aquele que oferece maior quantidade de informação com menor complexidade (menor número de parâmetro livres). Sendo N o número de pontos ajustados por um modelo em particular (número de condições de contraste) e K o número de parâmetros livres desse mesmo modelo, o AIC é definido como:

$$AIC = N \ln \left(\frac{SS_{ajuste}}{N} \right) + 2K$$

onde, SS_{ajuste} é a soma dos quadrados dos resíduos derivado do ajuste pelo modelo. O primeiro termo da equação é responsável pela precisão descritiva, enquanto o segundo termo penaliza a complexidade do modelo. De acordo com o AIC, quanto menor o seu valor, melhor o desempenho do modelo. No presente estudo, foi utilizada uma derivação do AIC para baixa amostragem, a qual é

recomendada sempre que $N/K < 40$ (ver Burnham e Anderson, 2002). Essa derivação é definida como:

$$AIC_c = AIC + \frac{2K(K+1)}{N-K-1}$$

Embora o melhor modelo para uma determinada célula seja aquele com o menor valor de AIC_c , esses valores por si só não têm significado absoluto: eles variam em uma escala relativa e são afetados pelo tamanho da amostra. Entretanto, é possível calcular, a partir desses valores, a probabilidade relativa de cada modelo ser o melhor para uma determinada célula. Esse cálculo é realizado através do peso de Akaike, definido como:

$$W_i = \frac{\exp(-\frac{\Delta_i}{2})}{\sum_{m=1}^M \exp(-\frac{\Delta_i^m}{2})}$$

onde

$$\Delta_i = AIC_c^i - \min AIC_c$$

modelos M ($M = 4$) e AIC_c^i é o valor de AIC_c do modelo i do mesmo conjunto, incluindo o modelo do qual o valor de $\min AIC_c$ foi derivado ($\Delta_i = 0$). A soma dos W_i de todos os modelos no conjunto, para cada célula, é igual a 1. A análise acima foi realizada célula a célula.

3.9. A modulação contextual

As curvas de resposta ao contraste na presença dos flaqueadores também foram ajustadas de acordo com os critérios mencionados acima (R^2 e AIC_c e peso de Akaike). Além disso, calculou-se o índice de supressão a partir dos resultados obtidos pelo protocolo GASTC (Figura 3.4 - grades senoidais em movimento em diferentes tamanhos). O índice de supressão (ISu) foi definido como:

$$ISu = 1 - \frac{Mmin}{Mresp}$$

onde, *Mresp* refere-se à resposta máxima ou pico da resposta correspondente a um determinado tamanho de estímulo; *Mmin* é a menor resposta após o pico da resposta (*Mresp*).

3.10. Estatística geral

A modificação de Lilliefors do teste de Kolmogorov-Smirnov foi empregada para verificação da normalidade de distribuição das amostras. Verificada a normalidade utilizou-se o teste t pareado para avaliar diferenças estatísticas entre a média dois grupos. Do contrário, normalidade tenha sido violada, foram adotados os testes de Wilcoxon Signed-Rank e o de Friedmann, equivalentes aos testes paramétricos apresentados acima. O nível de significância considerado foi de 5% e as medidas de tendências centrais foram apresentadas como mediana e o 25° e 75° percentil como uma medida da dispersão populacional na maioria das análises.

4 RESULTADOS

Inicialmente foram selecionadas 43 respostas de neurônios do wulst visual, todavia 12 desses neurônios foram desconsiderados por não atender o critério de inclusão (ver Material e Métodos). Por consequência, os resultados aqui apresentados se referem aos dados quantitativos obtidos a partir de 31 neurônios individuais. O número de células amostradas em cada uma das 5 corujas foi de 5,18,4,11,5. Para avaliar a curva de resposta ao contraste assim como a influência do contexto na resposta cada célula, foram utilizados oito (apenas 2 células) ou treze valores de intensidade de contraste. A Figura 4.1 mostra as respostas de duas células distintas em função do contraste. As respostas foram apresentadas na forma de histogramas de tempo periestímulo (PSTH), com *bins* de 10 ms, correspondendo a média das 10 repetições para o mesmo valor de contraste. Examinando os PSTHs é possível reconhecer algumas características da dependência da resposta neuronal em relação ao contraste e ao tipo de estímulo. Um contraste mínimo de 20% (Teste de Wilcoxon, $P = 0.04$) e 12% ($P = 0.009$) foi necessário para evocar uma resposta significativa, figuras 4.1- A e B, respectivamente. Pode-se constatar que existe uma tendência a um aumento monotônico da resposta a medida que os valores de contraste aumentam. Além disso, há uma resposta transiente pronunciada e uma *off response* marcante.

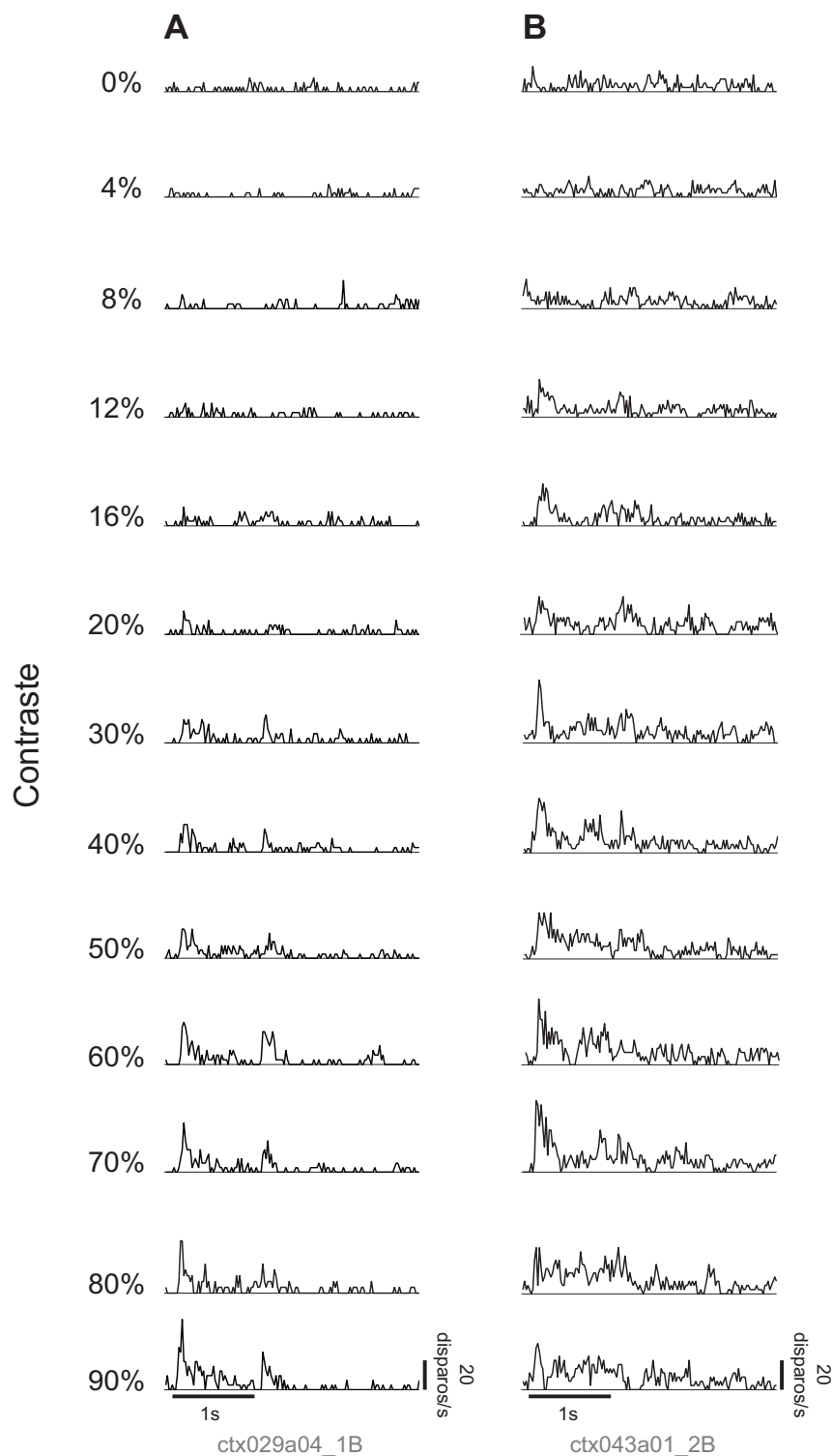


Figura 4.1. Respostas de dois neurônios à estimulação com *gabors* de diferentes níveis de contraste sob a forma de histogramas de tempo periestimulo (PSTH, largura do Bin = 10ms). Note que como o eixo das abscissas foi dividido pelo valor da largura do *bin*. O tempo total de cada repetição foi igual a 3100ms sendo: 100 ms de pré-estimulação (tela cinza), 1000 ms período de estimulação; 2000ms período pós estimulação (tela cinza). A célula tende a aumentar sua resposta conforme o aumento da intensidade do contraste. No painel A o neurônio um contraste mínimo de 20% foi necessário para evocar uma resposta significativa (teste de Wilcoxon, $P = 0.04$). No painel B, o contraste mínimo de 12% foi necessário para evocar uma resposta significativa (teste de Wilcoxon, $P = 0.009$).

4.1. Caracterização das respostas ao contraste

Os valores de contraste adotados permitiram capturar a faixa de dinâmica de resposta ao contraste de cada célula bem como o ponto de saturação da curva de resposta ao contraste. Por conseguinte, foram calculados os índices de monotonicidade (IM) e saturação (IS). Esses índices permitem estimar o grau de saturação e supersaturação (diminuição da resposta em níveis mais altos de contraste) das curvas de resposta. O histograma populacional de IM mostra que boa parte das células responderam monotonicamente ao aumento da intensidade ao contraste. Como pode ser visualizado no gráfico da figura 4.2-A 61% dos valores de IM são iguais ou muito próximos de 1 (Mediana=1, [0.83-1]), sendo o comportamento nitidamente não monotônico exibido apenas por duas células. Os índices de saturação (figura 4.2-B) mostraram que esses neurônios apresentam comportamentos de saturação distintos revelando uma disparidade entre as curvas do grupo de células aqui consideradas: aquelas cuja resposta satura em valores mais baixos de contraste IS entre 0 e 0.3 (12 células) caracterizando uma rápida compressão da resposta e aquelas em que o nível de saturação ocorre em altos contrastes $IS \leq 0.5$ ou ainda que não apresentam comportamento de saturação (10 células). É importante ressaltar que se o tamanho amostral fosse maior talvez não veríamos essa tendência e sim um histograma populacional de IS com um perfil típico de distribuição normal. De fato, os valores de IS apresentaram uma distribuição normal (Lilliefors, $P= 0,29$), distribuídos em torno da média= 0,31; DP= 0,26, indicando que uma parte considerável de nossa amostra exibe um certo grau de compressão a partir de um determinado nível de contraste. Destaca-se que apenas dois neurônios apresentaram valores negativos de IS, o que denota uma leve supersaturação em sua curva de contraste, valores de IS -0,30 e -0,35.

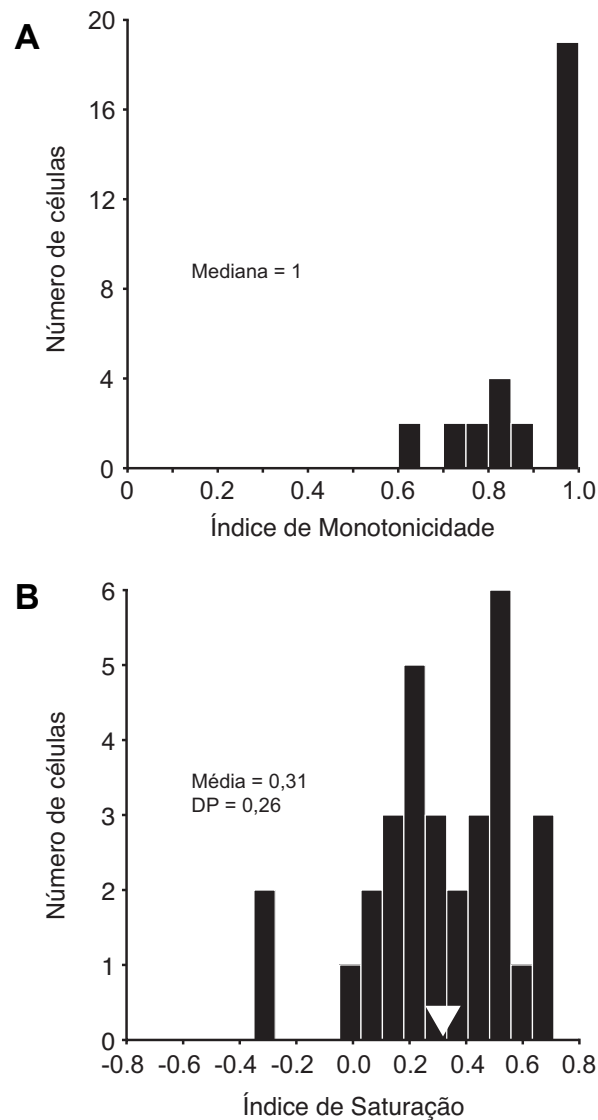


Figura 4.2. Avaliação quantitativa resposta dos neurônios do wulst em função do contraste. **A** - Índice de monotonicidade (IM): o comportamento da resposta é considerado monotônico para valores de $IM \approx 1$; $IM=0$ denota um perfil não monotônico, isto é, resposta ao contraste máximo é a mesma da atividade espontânea. Boa parte dos neurônios do wulst apresentou uma resposta monotônica. **B** - Índice de saturação (IS): Neurônios que apresentam de $IS > 0$ exibem um perfil de resposta monotônico, a medida que IS aumenta menor o grau de saturação. $IS=0$ indica uma resposta com saturação assintótica. Valores de $IS < 0$ caracteriza um perfil não monotônico, podendo resultar em supersaturação. As medidas de tendência central e número de células (n) estão indicados no lado esquerdo de cada painel.

Após essa caracterização inicial constatamos que boa parte das células exibe um comportamento monotônico e uma leve saturação. Esses resultados foram importantes para o prosseguimento da análise das curvas de resposta ao contraste. Como mencionado um dos objetivos deste trabalho foi buscar um modelo que melhor descrevesse as respostas ao contraste dos neurônios amostrados a fim de capturar pontos críticos da curva de resposta que poderiam sofrer alguma alteração dependendo do contexto. Para obtermos um melhor ajuste das curvas de resposta, foi estabelecida uma comparação entre os quatro modelos (linear, logaritmo, potência e taxa hiperbólica) assim como estudo realizado no wulst visual de corujas buraqueiras (Vieira *et al.*, 2016).

Os quatro modelos foram ajustados para cada célula segundo o Método de mínimos quadrados, sendo o coeficiente de determinação (R^2) utilizado como medida de qualidade do ajuste para cada um deles. A figura 4.3 mostra 2 exemplos ajustados para cada modelo segundo o melhor valor de R^2 , pode-se perceber que as células com ajustes linear (A) muito se assemelham aquelas que apresentam o modelo de potência como melhor ajuste (B). Em C, destaca-se o modelo logarítmico em que há um aumento rápido da resposta em baixos valores de contraste seguido por uma compressão. Em D, duas células que exibem a taxa hiperbólica como melhor modelo, em ambas percebe-se um aumento lento não linear na faixa de baixos contrastes, seguido por um aumento linear e compressão da resposta. Observe a diferença entre as duas curvas do mesmo modelo, a primeira com perfil tipicamente sigmóide, nesse caso o neurônio apresentou um baixo valor de C_{50} (21) com nítida compressão da resposta enquanto que a segunda curva apresentou um deslocamento horizontal para direita, portanto um C_{50} maior e uma compressão mais leve, o que pode ser confirmado pelo menor valor de R_{max} . Essa variedade dentro do modelo hiperbólico indica a presença de neurônios no wulst visual com diferentes sensibilidades ao contraste. Ressalta-se que as células A e D encontram representadas também na figura 4.1. Considerando os valores R^2 , a grande maioria dos neurônios amostrados (78%-24/31) apresentaram o modelo hiperbólico como melhor ajuste (Mediana $R^2= 0.91$, [0.80-0.94]). Entretanto, considerando cada célula separadamente os valores de R^2 para todos os modelos foram similares aos valores de R^2 para o modelo hiperbólico, com diferença por vezes na ordem de centésimos. Assim, constatamos que grande parte das células apresentam valores de $R^2 > 0.80$: 61% das células

para os modelos linear e logarítmico; 71% e 77% para os modelos de potência e hiperbólico, sendo a medianas dos valores de R^2 0.82, 0.87, 0.81, 0.91, respectivamente.

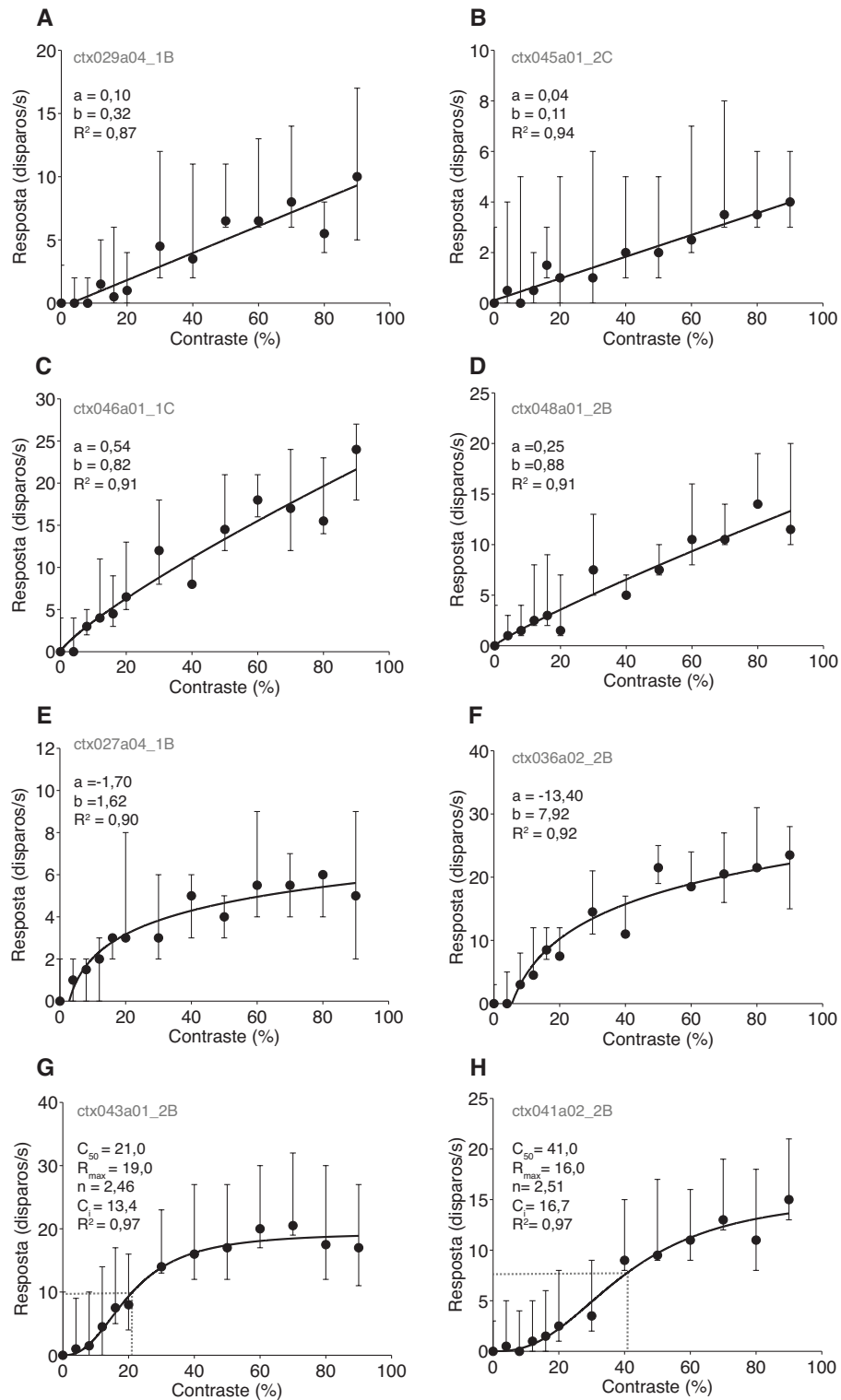


Figura 4.3. Curvas de resposta ao contraste para diferentes neurônios do wulst visual. Cada ponto no gráfico indica a taxa de disparo mediana (sobre 10 repetições) da célula, com o 1º e 3º quartil representados por barras de erro. As linhas contínuas entre as repostas de cada célula representam o melhor ajuste obtido dentre os quatro modelos: linear (A,B), potência (C,D), logarítmico (E,F) e taxa hiperbólica (G,H).A qualidade do ajuste foi avaliada de acordo os valores de (R^2). Para cada modelo selecionado, os valores dos parâmetros livres estão especificados do lado esquerdo de cada gráfico. Nos gráficos G e H as linhas pontilhadas destacam os valores de C_{50} , o qual indica o contraste necessário para evocar 50% da resposta máxima da célula (R_{max}).

É sabido que quanto maior o número de parâmetros livres em um modelo, maior é a chance de se produzir um ajuste excessivo (overfitting), e conseqüentemente um melhor ajuste. Talvez o maior número de parâmetros livres apresentados pela Taxa hiperbólica, possa explicar o fato de que esse modelo exiba melhor ajuste para 78% das células. Em vista disso, foram calculados os valores de AIC_c dado que o mesmo estabelece um contrapeso entre a qualidade do ajuste e o número de parâmetros livres de cada modelo matemático. É interessante observar no gráfico apresentado na figura 4.4 que a proporção de células que melhor se ajustam ao modelo hiperbólico cai (29%) consideravelmente quando esse critério é aplicado. Em contrapartida, os modelos linear, logarítmico, potência aumentam a fração de células para as quais se obtêm melhor ajuste (16%, 26% e 29%, respectivamente). A distribuição aproximadamente homogênea dessas proporções justifica nossa hesitação em escolher a função hiperbólica como aquela que oferece melhor ajuste para neurônios amostrados, posto que os valores de R^2 para cada um dos modelos são muito próximos. Nesse ponto, é necessário salientar que nos deparamos com uma questão parecida porque não sabíamos se os valores de AIC_c para cada modelo eram significativamente diferentes, devido à proximidade de seus valores. Por essa razão, considerando os valores de AIC_c , calculamos o peso de Akaike, o qual representa a probabilidade relativa de cada modelo oferecer o melhor ajuste célula a célula.

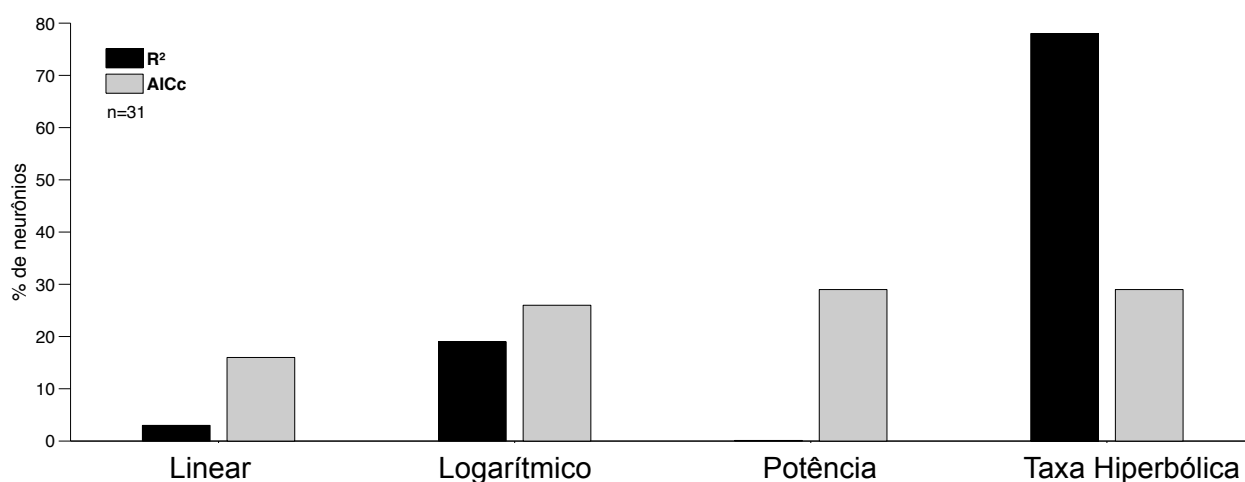


Figura 4.4. Porcentagem de neurônios que melhor se ajustam a cada modelo segundo os valores de R^2 , barras pretas, e os valores de AIC_c , barras cinzas. Observa-se que proporção de células que melhor se ajustam ao modelo hiperbólico cai de 78% para 29% quando AIC_c é aplicado.

Como pode ser observado na Figura 4.5 uma proporção substancial de células apresentam valores de probabilidade < 0.1 . Além disso, considerando-se todos os modelos, mais de 70% dos neurônios amostrados apresentam peso de Akaike < 0.4 , evidenciando que existe uma baixa probabilidade de haver diferenças substanciais entre os modelos para maioria da células. Na prática, isso não significa que todos os modelos se ajustam adequadamente para o referido conjunto de neurônios. Apenas queremos chamar a atenção para o fato de que, dentre esses 4 modelos, mais de um deles se adequam satisfatoriamente a uma determinada célula, o que pode ser endossado pela pequena quantidade de neurônios que exibem alta probabilidade de melhor se ajustar a somente um modelos adotados. Tendo em vista isso e considerando unicamente os quatros modelos percebe-se que os neurônios do wulst da coruja *Tyto furcata* possivelmente não apresentam um modelo notadamente descritor das curvas resposta ao contraste, de outro modo demonstrado para o córtex visual primário de gatos e macacos no trabalho seminal de Albrecht e Hamilton em 1982.

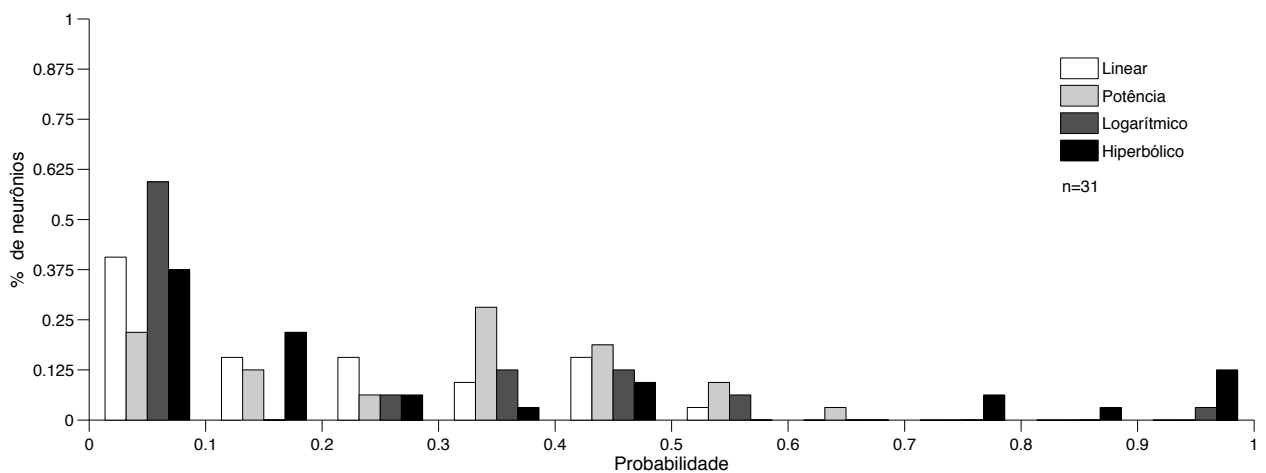


Figura 4.5. Comparação entre modelos considerando o peso de Akaike (AIC) para cada neurônio. Cada modelo é representado por uma barra de cor diferente conforme a legenda. O eixo das abcissas apresenta o valor de probabilidade de cada célula oferecer melhor ajuste: valores entre 0,9 e 1,0 indicam uma alta probabilidade de uma determinada célula apresentar um único ajuste como melhor; valores entre 0 e 0,1 indicam que todas os modelos exibem um bom ajuste para o neurônio em questão.

Outro fato notável é que a proporção de neurônios que melhor se ajustam aos modelos potência e logarítmico ganham considerável importância quando o AICc é empregado, ambos apresentando proporções similares: 29% e 26%. Com intuito de compreender melhor porque ocorre essa mudança marcante nas

proporções dos modelos que apresentam componentes não lineares em seu perfil, analisamos os parâmetros do modelo hiperbólico, os quais fornecem informações importantes sobre pontos críticos da curva de contraste, a saber: contraste de semi-saturação (C_{50}) contraste no qual se atinge 50% da resposta máxima; o expoente (n) o qual estabelece a inclinação da curva e as taxas de variação das não linearidades a baixo (expansão) e alto (compressão/saturação) contraste; e a resposta máxima (R_{max}), concernente a taxa de disparo em que a resposta do neurônio satura.

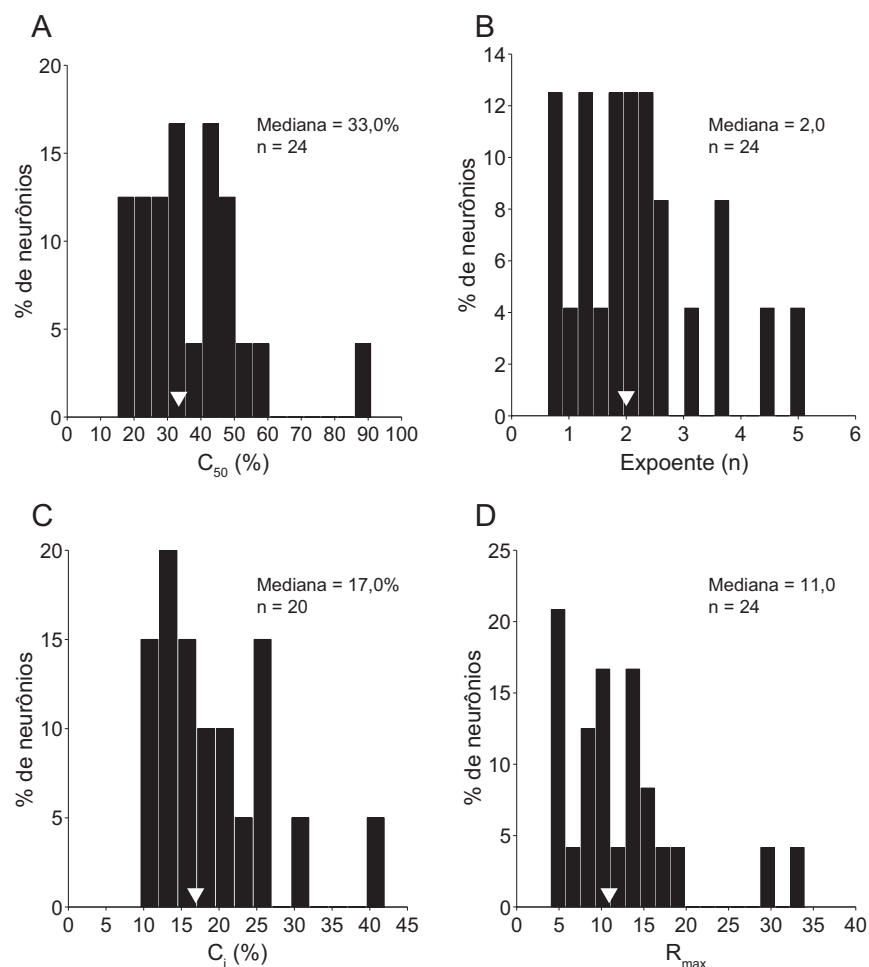


Figura 4.6. Distribuição dos valores dos parâmetros livres do modelo hiperbólico: **A-** C_{50} , o contraste de semi-saturação; **B-** expoente n , determina a inclinação da curva; **D-** R_{max} , que se refere à taxa de disparo no ponto de saturação da resposta; **C-** C_i é derivado a partir do modelo hiperbólico e corresponde ao contraste em que o comportamento de expansão é substituído por um aumento linear da resposta. Os histogramas mostram a distribuição dos valores dos parâmetros livres das células cujos ajustes hiperbólicos foram plausíveis ($n = 24$). As setas brancas indicam o valor da mediana.

Observando a figura **4.6-B**, pode-se perceber que boa parte dos valores de n estão concentrados entre 1 e 2.5 (Mediana = 2; dentre 24 neurônios que apresentaram ajustes plausíveis - $C_{50} < 100\%$), sendo que 50% apresentam $n > 2$ e 33% valores entre 1 e 2. Por consequência, uma porção relativamente considerável da amostra apresenta curvas de contraste com um certo grau de expansão em baixos valores de contraste e um perfil compressivo em altos valores de contraste, perfil este característico do modelo hiperbólico. Essa não linearidade expansiva para baixos contrastes também pode ser capturada pelos valores de C_i (Figura 6- painel C), ponto de inflexão em que curva de resposta ao contraste deixa de seguir a lei da potência passando a exibir um aumento linear: 50% desses valores encontram-se entre 10 e 17% de contraste (Mediana = 17, [13.7-24.9]). Esse valor relativamente alto quando comparado aos valores encontrados para neurônios do wulst da coruja buraqueira (Mediana = 7,4), poderia explicar o fato de que 29% dos neurônios amostrados apresentam o modelo de potência como melhor ajuste uma vez que, para muitas células, a taxa de aumento da resposta para baixos valores de contraste ocorre de forma lenta. Por outro lado, o perfil das curvas ajustadas por esse modelo muito se aproximam daquele exibido por uma função linear, o que pode ser confirmado pelos valores de um de seus parâmetros livres: o expoente b da função potência apresenta a maioria dos valores ≈ 1 (Mediana = 0.8, [0.6 -1.0]), enquanto que o expoente n da função hiperbólica, para essas células, exibiram valores menores ou muito próximos de 1 (Mediana=1.21), valores esses característicos de uma resposta linear. Logo, concluímos que muitas das células cujo modelo de potência apresenta melhor ajuste na verdade muito se aproximam de um perfil linear (70% dessas células). Além disso, os ajustes implausíveis englobam 22% (7/31) dos neurônios da amostra. Essas células apresentam $n \leq 1$ e exibem, pois, um perfil linear. Em conjunto, as células que exibem um perfil linear sem necessariamente apresentar como melhor ajuste a função linear perfazem 39% (12/31) da amostra. Entretanto, a maioria desses neurônios apresentam um bom ajuste para taxa hiperbólica (Mediana $R^2 = 0.91$, [0.85-0.93]). Como pode ser observado no histograma de distribuição na Figura **4.6-A** os valores de C_{50} (Mediana= 33, [23-45]) abrangem uma ampla quantidade valores de contraste, o que pode ser um indicativo da existência de uma diversidade considerável de neurônios do wulst no que concerne a sensibilidade ao contraste. Acrescenta-se ainda que 58% das células apresentam $C_{50} < 35$. Vale

lembrar que para os valores de R_{max} (Figura 4.6, painel D) para os neurônios registrados são bem menores que aqueles encontrados nos outros estudos, pois neste trabalho foram usados estímulos estáticos, os quais geram respostas menores e mais transientes em relação aos estímulos em movimento (Emerson & Gerstein, 1977). Os valores de R_{max} servirão melhor às análises sobre o efeito do contexto nas curvas de resposta ao contraste.

Tendo em vista todas as análises acima apresentadas parece não ser possível eleger um único modelo, dentre os quatro, para melhor descrever as curvas de resposta ao contraste no wulst visual das corujas *Tyto furcata*. É interessante destacar que em nossa amostra muitos neurônios apresentaram uma expansividade em baixos contraste e certo nível de compressão em altos contrastes, porém boa parte dos neurônios (39%) apresentaram um perfil essencialmente linear.

4.2. A modulação centro-contorno no wulst visual das corujas suindaras

A fim de certificarmos que a modulação centro-contorno acontece no wulst visual de corujas *Tyto furcata* calculamos o índice de supressão (ISu) da resposta de 41 neurônios em função da variação tamanho de grades senoidais em movimento (protocolo GASTC). Como pode ser visualizada na figura 4.7-A 61% dos neurônios apresentaram ISu maior que 30% e apenas 4 neurônios não apresentaram nenhum grau de supressão pelo contorno (Mediana e Média = 0.35, DP=0.20).

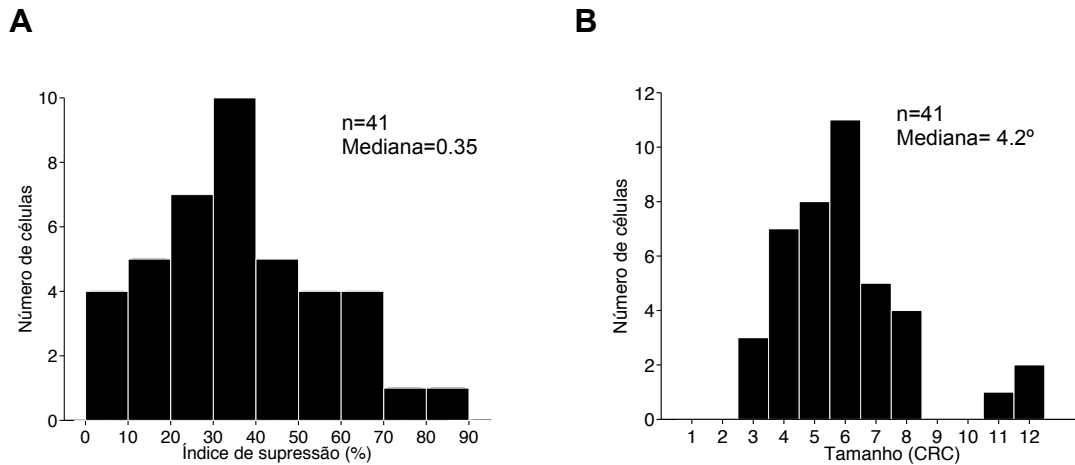


Figura 4.7. Distribuição dos índices de supressão (ISu) e tamanhos do campo. **A-** Porcentagem de supressão para cada neurônio dada pelo índice de supressão (Mediana = 0.35), como mostra o eixo das abscissas, os valores foram agrupados em intervalos de 10%. **B-** Tamanhos de CRC, note que cada valor no eixo x representa um valor em graus de ângulo visual, a saber: 0.84°, 1.4°, 1.8°, 2.4°, 3.2°, 4.2°, 5.0°, 6.0°, 6.7°, 10.5°, 15.2° e 21° nessa ordem.

A medida do campo receptivo clássico (CRC) baseou-se no tamanho do estímulo que produz pico da resposta. A figura 4.7-B mostra a distribuição dos tamanhos de CRC dos neurônios amostrados, os quais apresentaram mediana de 4.2° de ângulo visual e média 3.75° (DP= 1.24°). Reitera-se que para o cálculo da média 3 *outliers* foram desconsiderados, sendo esses valores aqueles em que o ISu foi igual ou muito próximo de zero. A figura 4.8 B e C apresenta dois desses valores: o primeiro (painel B) não há supressão da resposta e provavelmente o tamanho de CRC seja ainda maior que 21°, logo não podemos afirmar se esse neurônio realmente não apresenta supressão pelo contorno. Por outro lado, o segundo neurônio (painel C) a resposta atinge um platô no ponto referente a 6.0°, nesse caso podemos afirmar que o neurônio realmente não exibe supressão pelo contorno. Estes são dois tipos de respostas diferentes a despeito dos valores muito próximos de ISu. Os painéis D e E ilustram respostas de neurônios cujos índices de supressão são próximos da média da população, veja que essas células também apresentam diferentes tamanhos de CRC bem como a magnitude da resposta (disparos por segundo). Em F e G, exemplos representativos de neurônios que apresentaram um alto grau de supressão 0.83 e 0.63, respectivamente. Observe também que, excetuando o neurônio do painel B, todas as curvas apresentam um pico de resposta.

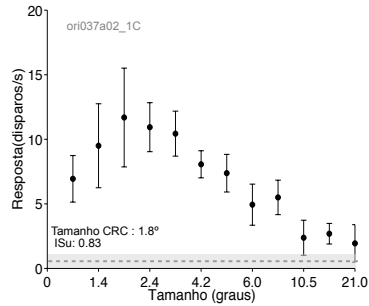
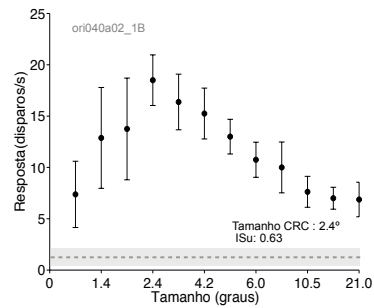
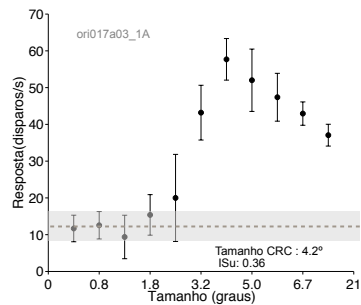
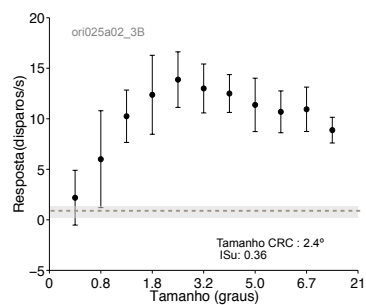
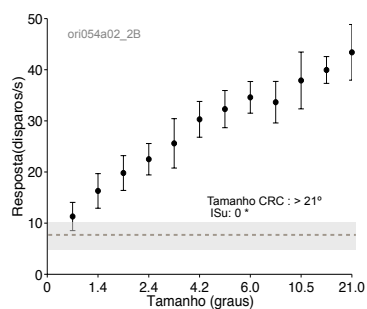
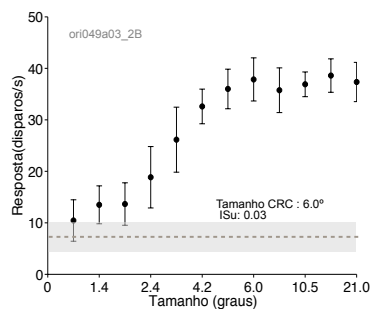
A**B****C****D****E****F****G**

Figura 4.8. Resposta de neurônios do wulst à diferentes tamanhos de grades senoidais. As curvas aqui representadas são respostas brutas, ou seja, curvas não ajustadas (média de 10 repetições para cada tamanho). As linhas pontilhadas representam a atividade espontânea média de cada neurônio e a sombra cinza seus respectivos desvios padrões. **A-** Grades senoidais (12 ou 11 tamanhos diferentes foram utilizados). **B,C-** Diferentes comportamentos da resposta de neurônios em que os ISu são iguais 0. **D,E-** Curvas de resposta cujo valor do ISu correspondem a tendência central da população (Média =0.35). **F,G-** Curvas com alto índice de supressão e CRC de pequenos tamanhos (pico da resposta). Observe que a resposta aumenta a medida que o tamanho do estímulo aumenta até atingir um pico (resposta máxima), a partir desse ponto a resposta diminui ou atinge um platô.

4.3. O efeito do contraste local na modulação centro-contorno

A princípio pensamos que seria possível adotar o modelo hiperbólico para investigarmos as possíveis mudanças geradas pelo contexto na curva de resposta ao contraste, porém boa parte de nossas curvas apresentaram um perfil linear o que, acrescido do pequeno n amostral, impossibilitou esse tipo de comparação. De fato, entre os neurônios selecionados (21 para o protocolo End_Near_Co_Ort e apenas 15 para o protocolo Side_Near_Co_Ort) pelo menos 30% apresentaram comportamento linear, sendo alguns desses quando estimulados somente em CRC, enquanto outros na presença dos flaqueadores. Guardando essas proporções, uma análise estatisticamente robusta só seria possível se o n amostral fosse 3 ou 4 vezes maior. Ainda assim, talvez o modelo de taxa hiperbólica não seria eficaz para entendermos a influência do contraste local na modulação centro-contorno, já que as operações engendradas pela rede de neurônios do wulst parecem ser diferentes daquelas em V1, dado a considerável quantidade de neurônios que apresentaram curvas de resposta ao contraste com perfil essencialmente linear.

Tendo em vista isso, resolvemos mostrar apenas efeitos pontuais encontrados na resposta dos neurônios selecionados. Dos neurônios amostrados para o protocolo em que os flaqueadores foram colocados na zona terminal 80% (17/21) apresentaram algum efeito modulatório significativo (Teste Wilcoxon, $P < 0.05$), porém apenas um ou outro valor de contraste apresentou tal efeito. Além disso, buscamos investigar a emergência de efeitos facilitatórios na presença de estímulos com orientação contrastante (saliência visual). Todavia, apenas 7 neurônios responderam a orientações contrastantes, sendo 3 deles em altos valores de contraste, logo não podemos afirmar que os neurônios do wulst respondem a saliência visual. A figura 4.9 A , C e E mostra a presença de efeitos supressivos e facilitatórios, porém não conseguimos visualizar um padrão tanto para os estímulos ortogonalmente orientados quanto para os colineares. A maioria dos efeitos observados (21/31) foram gerados com estímulos dispostos colinearmente. O painel A, por exemplo, mostra uma facilitação provocada pelo flaqueador colinear + CRC a 40% de contraste bem como um efeito supressivo engendrado pelo flaqueador ortogonal + CRC 70% de contraste. É interessante notar no painel E, o exemplo de uma outra tendência em nossos dados: facilitação

em baixos contrastes por flaqueares colineares. Quando apresentados na zona lateral os flaqueadores também provocaram efeitos facilitatórios e supressivos como representados nos painéis B, D e F. Entretanto, ao contrário do observado na zona terminal, quase 60% dos efeitos modulatórios (16/27), ocorreram quando os flaqueadores eram ortogonalmente posicionados em relação a orientação de CRC. Observe que não há diferença entre respostas nas condições contraste 0% sem flaqueadores (apenas CRC) e com flaqueadores (flaqueador colinear + CRC 0% de contraste ou flaqueador ortogonal + CRC 0% de contraste) (Teste Wilcoxon, $P > 0.05$). Percebe-se ainda que em vários pontos das curvas de resposta aos flaqueadores apresentam um aumento ou uma diminuição da resposta em relação a estimulação somente em CRC, porém sem significância estatística.

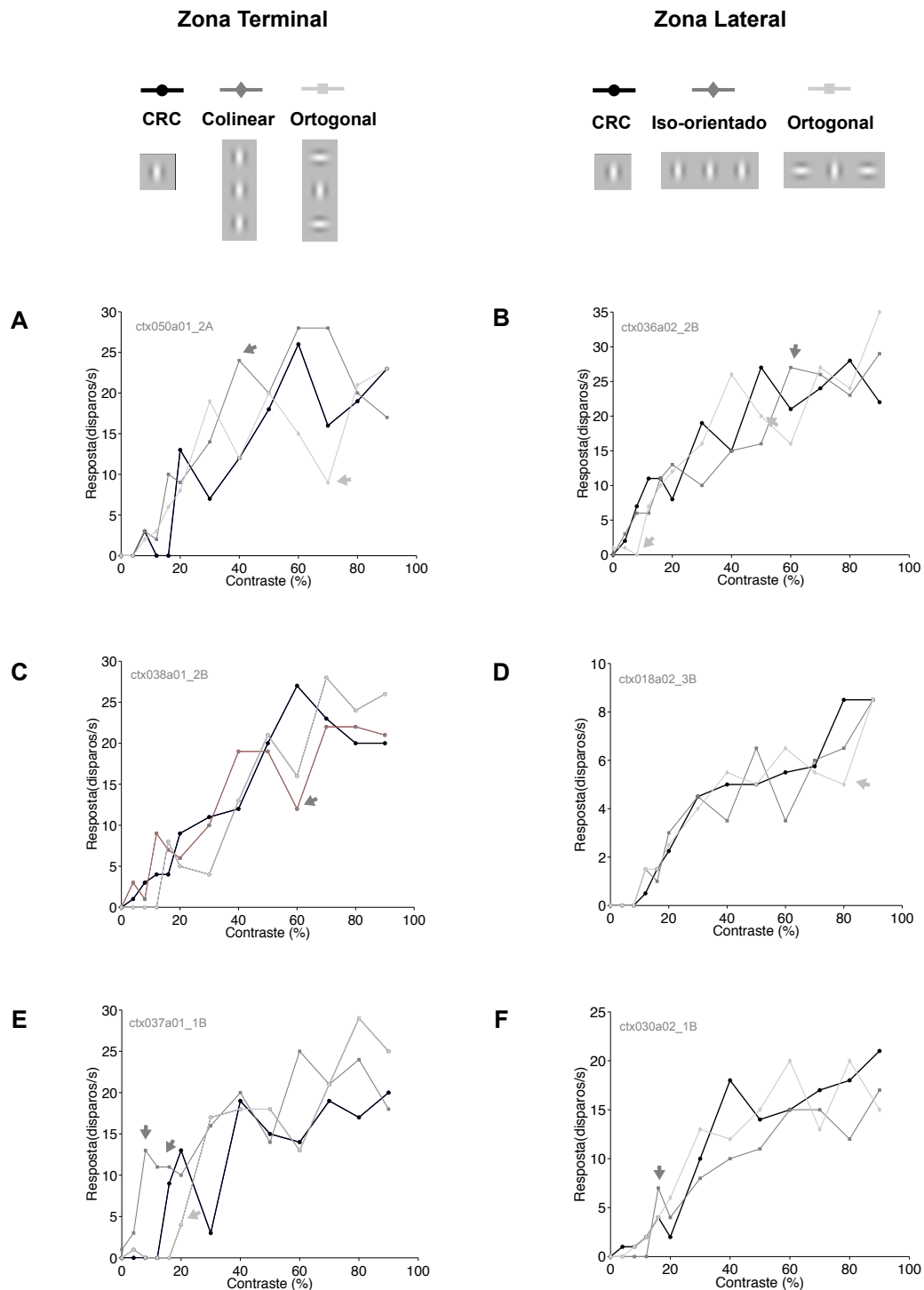


Figura 4.9. Efeitos modulatórios na resposta de neurônios do wulst em função da organização espacial dos estímulos e contraste local. Em preto a curva de resposta ao contraste quando somente CRC foi estimulado; em cinza escuro resposta à presença do gabor-central+flanqueadores colineares (zona terminal) ou iso-orientados (zona lateral); em cinza claro, resposta à presença do gabor central+ flanqueadores ortogonais. Cada ponto da curva representa um valor de contraste, as setas cinza escuro e cinza claro, indicam efeito modulatório significativo (Teste Wilcoxon, $P < 0.05$) por flanqueadores colineares e ortogonais à orientação de CRC, respectivamente. Painéis A, C e E mostram respostas à estimulação na zona terminal. Painéis B, D e F apresentam respostas a estímulos colocados na zona lateral.

A figura 4.10 revela o quadro geral dos efeitos modulatórios estatisticamente significativos (Teste Wilcoxon, $P < 0.05$) em relação ao nível de contraste e a posição dos estímulos flanqueadores na periferia de CRC. Como pode ser observado a maioria dos valores de contraste não apresenta nenhum efeito. Ainda assim percebemos uma tendência à facilitação em baixos contrastes e supressão em altos contrastes (painel A, Teste Wilcoxon $P = [0.01 - 0.03]$) nas condições em que os flanqueadores são dispostos colinearmente em relação a CRC na zona terminal, além da diminuição desses efeitos quando os estímulos são ortogonais à CRC (painel B, Teste Wilcoxon $P = [0.01 - 0.04]$). Os painéis C e D mostram um resultado diferente em relação a zona terminal: o surgimento de efeitos facilitatórios em altos contrastes e a prevalência dos mesmos para os flanqueadores orientados ortogonalmente em relação à CRC (Teste Wilcoxon, iso-orientado $P = [0.02 - 0.04]$; ortogonal $P = [0.02 - 0.04]$). Reitera-se que para confirmarmos as tendências aqui destacadas assim como as diferenças observadas em relação zona terminal e lateral, faz-se necessário aumentarmos o nosso n amostral.

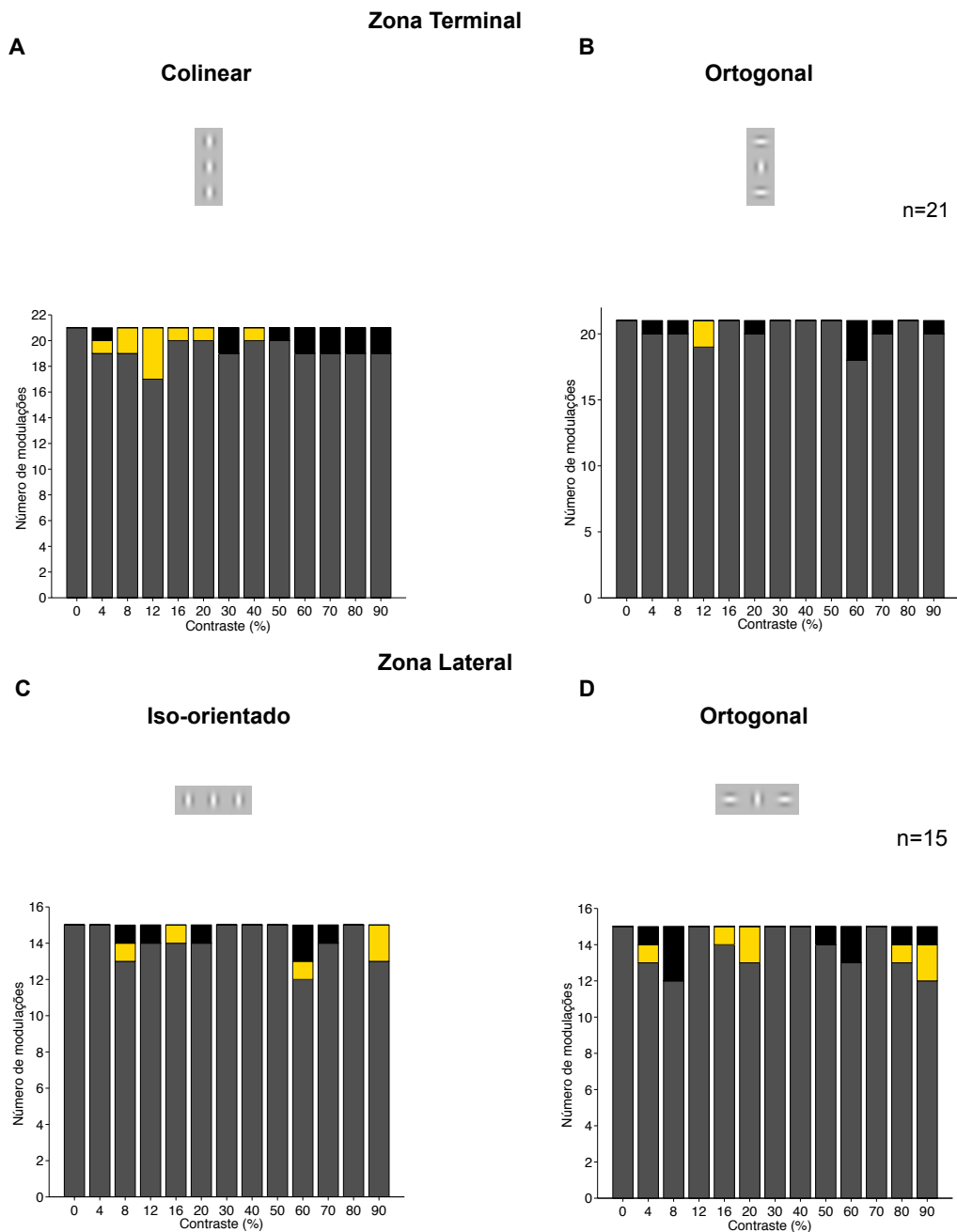
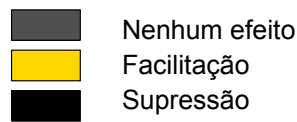


Figura 4.10. Representação geral do efeito do contraste na modulação contextual. Como mostrado na legenda, em cinza, nenhum efeito estatisticamente significativo; em amarelo, efeitos facilitatórios; em preto efeitos supressivos (Teste Wilcoxon, $P < 0.05$). **A, B-** Efeitos modulatórios em 21 neurônios do wulst visual quando estimulados juntamente CRC + flaqueadores posicionados na zona terminal de forma colinear (painel A) e ortogonal (painel B). Note no painel A a predominância da facilitação em baixos contrastes e supressão em altos contrastes. **C,D-** Modulação pelo contorno em 15 neurônios estimulados por flaqueadores colocados na zona lateral. Observe a presença de facilitação em altos contrastes.

5 DISCUSSÃO

5.1. Principais achados

Os resultados apontam que os neurônios do wulst visual de corujas *Tyto furcata* não apresentam um modelo dominante que melhor descreva as curvas de respostas ao contraste. Dentre os perfis de resposta dos neurônios registrados destacam-se o delineamento linear e o sigmóide, sendo que o último caracteriza a presença de não linearidades nas duas extremidades da curva: uma expansividade em baixos contrastes e um certo grau saturação em valores mais altos.

Os neurônios do wulst visual das corujas suindaras apresentaram modulação centro-contorno, com grau de supressão considerável (Mediana=0.35) e campos receptivos com um tamanho médio de 3.7 graus de ângulo visual (Mediana= 4,2°). Não foi possível obter resultados uniformes em relação à influência do contraste local na modulação centro-contorno, o que poderia ser explicado, em parte, pelo pequeno amostral. Mesmo assim observou-se que efeitos modulatórios parecem ser mais pronunciados quando os estímulos são apresentados colinearmente na zona terminal. Além disso, constatou-se uma tendência a facilitação em baixos contrastes e supressão altos contrastes.

5.2. Função de resposta ao contraste: um paralelo entre corujas buraqueiras e diferentes paradigmas.

A despeito da alta qualidade óptica de seus olhos, as corujas *Tyto alba* apresentam baixa acuidade visual e baixa sensibilidade ao contraste em condições fotópica quando comparada a mamíferos (Harmening *et al.*, 2007; Orłowski *et al.*, 2012). Esses resultados provêm principalmente de estudos anatômicos e testes psicofísicos (Wathey & Pettigrew, 1989; Harmening *et al.* 2009; Orłowski *et al.*, 2012), salvo a contribuição da eletrofisiologia a partir de experimentos com eletrorretinogramas por padrão reverso - PERG (Ghim & Hodos, 2006). Vale lembrar que os resultados dos trabalhos mencionados não estão em completa conformidade, o que pode ser explicado pelas diferentes técnicas utilizadas, e também, porque ambos os estudos, anatômicos e eletrofisiológicos, foram realizados unicamente na retina. Portanto, é inegável a importância de estudos em

outros áreas da via visual de corujas para que possamos entender melhor tanto a atuação da rede neurônios engajada no processamento visual quanto o comportamento desses animais na natureza.

Em nosso laboratório, foi realizado um estudo eletrofisiológico de resposta ao contraste no wulst visual de corujas buraqueiras (*Athene cunicularia*), espécie notadamente diurna (Vieira *et al.*, 2016). Nesse trabalho estabeleceu-se uma comparação acurada entre os quatro modelos matemáticos avaliados para descrever a resposta ao contraste no córtex visual primário de gatos e macacos (Albrecht e Hamilton, 1982). Os modelos selecionados (linear, logaritmo, potência e hiperbólico) permitiram capturar diferentes perfis de resposta ao contraste, mostrando que ao contrário do encontrado em V1, o wulst das corujas buraqueiras não apresenta uma preponderância evidente de nenhum dos modelos. Ressalta-se que nesse estudo, um outra análise estatística (AICc e peso de Akaike) foi realizada, além da comparação entre os valores de R^2 . Essa análise mostrou uma baixa probabilidade de um único modelo servir para descrever as respostas dos neurônios tanto do wulst visual das corujas buraqueiras quanto das corujas suindaras. Vieira e colaboradores (2016) demonstraram que os valores do expoente n do modelo hiperbólico encontram-se entre 1 e 2 (Mediana =1.7) e a proporção de ajustes implausíveis (41%, $n \leq 1$) é alta para a maioria das células. Dessa maneira, concluiu-se que a curva de resposta ao contraste do neurônios de corujas buraqueiras exibem uma inclinação quase linear e uma pequena expansão em baixos contrastes. Por outro lado, diversos trabalhos realizados em mamíferos, incluindo gatos e macacos Albrecht & Hamilton, 1982; Contreras & Palmer, 2003; Sclar *et al.*, 1990; micos, Persi *et al.*, 2011; ratos, Girman *et al.*, 1999; camundongos, Niell & Stryker, 2008; e esquilos, Heimel *et al.*, 2005, demonstraram que, de uma maneira geral, a função hiperbólica é bom descritor para neurônios de V1. A distribuição dos valores do expoente n concentrados em torno da média > 2 bem como a pequena proporção de ajustes implausíveis endossam a ideia de se adotar o modelo hiperbólico como melhor ajuste para V1, porém esses trabalhos relatam que na verdade existe uma considerável heterogeneidade de perfis de curvas de contraste. Portanto, é muito importante não esquecermos de considerar essa variação de célula para célula e de sermos cautelosos quando se trata de aceitar a existência de um padrão único para explicar os resultados observados.

Em nosso estudo não foi determinada a sensibilidade ao contraste para cada neurônio amostrado, porém a partir da função hiperbólica, a qual exibiu boa capacidade de ajuste para grande maioria das células, foi possível precisar uma medida de sensibilidade global, conhecida como contraste de semi-saturação (C_{50}). Os valores de C_{50} (Mediana= 33) foram relativamente altos quando comparados as médias encontradas no wulst visual de corujas buraqueiras bem como em V1 de gatos e macacos (Albrecht e Hamilton, 1982; Contreras e Palmer, 2003; Vieira *et al.*, 2016). Uma possível explicação encontra respaldo no tipo de estimulação adotada: os trabalhos acima referidos utilizaram grades senoidais em movimento enquanto que em nosso experimento foram utilizadas grades estáticas, as quais evocam respostas de menor magnitude (Emerson & Gerstein, 1977). Além disso, Muller e colaboradores (2001) mostraram que neurônios de V1 detectam grades senoidais em movimentos mais facilmente que estímulos estacionários, o que corroborara com os achados acima. É importante destacar que Baron e colaboradores (2007) demonstraram que grande parte dos neurônios do wulst visual das corujas buraqueiras respondem fortemente a grades em movimento, dentre eles 66% (67/89) apresentaram seletividade direcional. Durante nossos registros em corujas *Tyto furcata* apenas escutando a atividade dos neurônios isolados já era possível constatar uma nítida diferença entre as respostas a grades em movimento e a grades estacionárias. De uma maneira geral, a maioria dos neurônios apresentaram respostas explicitamente mais fortes na presença das grades em movimento, sendo que alguns desses neurônios nem mesmo exibiram resposta evocada frente a um estímulo estático. De fato, Pettigrew (1979) revelou que 90% dos neurônios registrados em corujas *Tyto alba* apresentam seletividade para orientação e que boa parte deles tendem a responder a estímulos em movimento. Os resultados desses experimentos nos levam a crer que dependendo da célula registrada, as diferenças de resposta a baixos valores de contraste poderiam não ser capturadas pelo método e análises empregados.

Um outro achado interessante no que concerne a estímulos estáticos foi evidenciado por Albrecht e colaboradores (2002), razão pela qual eles encontraram efeitos similares aos reportados por Albrecht e Hamilton em 1982, utilizando dessa vez grades estacionárias. Entretanto, tais resultados foram obtidos por meio de uma análise que leva em consideração a maneira como a resposta do neurônio evolui no tempo, logo, talvez encontraríamos valores de C_{50} próximos aos da coruja

buraqueira se uma análise temporal fosse realizada. Por outro lado, cabe ressaltar que mesmo utilizando estímulos estáticos e uma análise temporal Hu e colaboradores (2011) relataram resultados contrastantes aos achados de Albrecht *et al.* em gatos. Nesse estudo, constatou-se uma quantidade significativa de ajustes com perfil linear (altos valores para C_{50}) para curvas de resposta ao contraste dos neurônios em V1 assim como demonstrado em corujas buraqueiras e agora em suindaras. Entretanto, os estímulos foram apresentados pelo método de correlação reversa, sendo cada um deles exibidos por um curto período de tempo (40ms), não havendo um intervalo entre as apresentações. É importante ressaltar que o campo receptivo tem se revelado uma entidade dinâmica que se modifica dependendo do estímulo assim como o regime de estimulação. Dai a importância de considerarmos diferentes análises e abordagens metodológicas para interpretação dos resultados e investigação das respostas neuronais.

Apesar de nosso pequeno n amostral, foi possível evidenciar com certo rigor estatístico que a função de resposta ao contraste dos neurônios do wulst visual das corujas *Tyto furcata* compartilha importantes similaridades com aqueles da espécie *Athene cunicularia*, a destacar a considerável proporção de células que apresentam um perfil aproximadamente linear. Vieira e colaboradores argumentaram que esses neurônios apresentam comportamento linear similar aos das células do NGL de macacos (Sclar *et al.*, 1990). Além disso, do contrário observado em mamíferos, apenas duas de nossas células, apresentaram supersaturação, o que endossa a hipótese acima, uma vez que células do NGL de uma maneira geral, também não exibem supersaturação. Jiang e colaboradores (2013) compararam a sensibilidade ao contraste de células do NGL de macacos desempenhando uma tarefa de detecção de contraste, como resultado evidenciaram que esses neurônios apresentam menor sensibilidade quando confrontados com a performance comportamental. Como mencionado, as corujas *Tyto alba* apresentam baixa sensibilidade ao contraste, o que poderia ser explicado pelo comportamento linear de baixo ganho ao contraste por boa parte dos neurônios registrados.

No que tange as diferenças aqui ressaltadas entre as duas espécies de corujas (e.g valores de C_{50}) é necessário considerar ainda, com muita cautela, que talvez essas discrepâncias estejam relacionadas, em parte, ao habitat diurno crepuscular das buraqueiras e noturno da suindaras. Nesse sentido é importante

destacar que as corujas suindaras apresentaram melhor desempenho em testes de discriminação de contrastes em condições escotópicas quando comparadas a outras espécies de aves e mamíferos, logo seria importante registrar a atividade dos neurônios do wulst nessas condições (Orlowski *et al.*, 2012). Esse mesmo trabalho faz uma comparação entre as curvas de acuidade e a luminância do meio de outras espécies. Dentre elas o desempenho dos gatos, que também são noturnos, é o que mais se assemelha ao das corujas *Tyto alba*: em ambas espécies a sensibilidade ao contraste se mantém constante ao longo de extremas condições de luminância para baixas frequências espaciais (Pasternak & Merigan, 1981; Orlowski *et al.*, 2012). Sendo assim, somos tentados a acreditar que o processamento visual em gatos e corujas deva apresentar notáveis semelhanças em função da convergência adaptativa para habitat noturno. De fato, os valores de C_{50} e do expoente n para curvas de contrastes de neurônios de V1 em gatos foram próximos aos encontrados nesse estudo, médias 25 e 2.12, respectivamente (Contreras e Palmer, 2003).

Ainda que com ressalvas, é curioso notar que para nossos resultados os valores do expoente n (Mediana = 2) e a proporção de ajustes implausíveis (22%) apresentam um resultado intermediário entre os achados em coruja buraqueira e aqueles em gatos. Foi possível observar que boa parte das curvas de ajustes mostraram certa expansividade em baixos contrastes e ao menos uma leve compressão. Em contrapartida, nossos dados revelaram uma considerável porcentagem de células que apresentam um perfil notadamente linear assim como relatado no estudo em corujas *Athene cunicularia*. Tendo em vista isso, seria interessante aumentarmos o n amostral assim como realizarmos outros tipos de análises para confirmar os resultados aqui apresentados. Talvez resultados como esses nos permita flagrar como milhões de anos de pressões evolutivas moldam o sistema nervoso de modo a não somente se adequar a filogênese das espécies, mas também ao meio em que vivem.

5.3. A modulação centro-contorno no wulst visual

Os neurônios engajados com a modulação contextual respondem seletivamente a estímulos dependendo de sua organização espacial através de mecanismos complexos que até hoje não foram completamente compreendidos.

Assim como vários estudos no córtex visual primário de mamíferos, Turchetti-Maia (2011) demonstrou que neurônios do wulst visual de corujas buraqueiras apresentam modulação centro-contorno. Nesse estudo, os efeitos supressivos mostraram-se altamente pronunciados, porém nenhum dos estímulos apresentados (grades senoidais em movimento que variavam em tamanho, orientação de CREC em relação a CRC e contraste acromático, apenas dois valores 10% e 97%) provocaram facilitação da resposta, apesar de algumas configurações do estímulo (e.g. direção do contorno ortogonal à CRC) induzirem uma diminuição da supressão. Tais achados ressaltam a importância da organização dos estímulos na modulação contextual, uma vez que nossos resultados demonstraram que alguns neurônios do wulst podem provocar efeitos facilitatórios dependendo do contraste e da conformação espacial dos atributos. É necessário salientar que no estudo realizado em corujas buraqueiras a periferia de CRC era completamente encoberta pelo estímulo e não apenas parte de sua região como em nosso paradigma. Ressalta-se ainda que a média do índice de supressão relatado em corujas buraqueiras (33%) foi bastante similar a média encontrada no wulst de corujas suindaras (Média= 35%), porém a média do tamanho dos campos receptivos foi consideravelmente diferente (*Athene cunicularia* = 2,7°; *Tyto furcata* = 3,7°), o que pode ser explicado pela representação mais lateral do campo visual para os neurônios amostrados.

Vários trabalhos demonstraram que o efeito supressivo é mais forte nas condições em que o centro e a periferia do campo receptivo apresentam estímulos iso-orientados (Cavanaugh *et al.*, 2002a; DeAngelis *et al.*, 1994; Walker *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2002) e que a supressão pode dar lugar à facilitação sobretudo quando a direção do movimento dos estímulos em CRC e CREC são contrastantes (Gilbert & Wiesel, 1990; Sillito & Jones 1996; Levitt & Lund, 1997; Jones *et al.*, 2001). Além disso, estímulos estáticos como texturas com orientações ortogonais também revelaram efeitos facilitatórios em V1 de primatas, endossando a ideia de que ao menos o substrato para saliência visual seja engendrado em V1 (Knierim & Van Essen, 1992; Zipser *et al.*, 1996, Nothdurft *et al.*, 1999; Schmid & Victor, 2014). Em corujas *Tyto alba*, Pettigrew (1979) observou o mesmo efeito supressivo descrito por Hubel e Wiesel (1965) em V1 de gatos. Esses neurônios do wulst visual foram então chamados “*end-stopped*”, pois sofriam supressão da resposta quando apenas uma porção de CREC era estimulada concomitantemente à CRC.

Todos essas implicações deixam claro a importância de se considerar a anisotropia do campo receptivo quando se trata de investigar a modulação contextual assim como os efeitos por ela gerados.

Nossos resultados revelaram uma tendência a facilitação em baixos contrastes e supressão em altos contrastes somente quando os estímulos eram colinearmente orientados. Um padrão de resposta similar foi demonstrado em gatos anestesiados (Polat *et al.*, 1998; Mizobe *et al.*, 2001) e em macacos em alerta (Kapadia *et al.*, 1999). É interessante ressaltar que testes psicofísicos em humanos mostram que gabors dispostos colinearmente aumentam a visibilidade do gabor posicionado entre eles (Polat & Sagi, 1993). Da mesma forma, Kapadia e colaboradores (1995) mostraram que o limiar de detecção de contraste diminui na presença de um flaqueador para sujeitos humanos e macacos rhesus. Nesse mesmo estudo, eles encontraram uma correspondência entre os achados psicofísicos e as respostas dos neurônios de V1 de macacos, mostrando uma facilitação da resposta na presença de um flaqueador colinear em 48% dos neurônios. Além disso, algumas células exibiram supressão quando estimuladas por um conjunto de linhas randomicamente orientadas e facilitação quando parte dessa linhas eram orientadas colinearmente de forma a produzir um contínuo (uma dentro de CRC e outras flaqueando CRC). Nesse ponto, é importante discernir um outro tipo de saliência visual, a saliência do contorno, a qual linhas pertencentes a bordas de um objeto são unidas perceptualmente resultando na separação entre contorno do objeto e seu pano de fundo (segmentação figura-fundo).

Estudos como o de Li e colaboradores (2006) comprovaram tais resultados mostrando que há um forte correlato entre respostas de neurônios V1 e a detecção da saliência do contorno. Esse trabalho é particularmente interessante porque apresenta resultados obtidos a sob influência do controle *top-down* (tarefa dependente) e *bottom-up* (tarefa independente). Os macacos foram treinados a discriminar um estímulo com saliência do contorno e um outro com barras aleatoriamente orientadas (noise-background). Todavia, para os experimentos sob o controle *bottom-up*, os macacos tinham que realizar uma tarefa não relacionada aos estímulos, paralela à detecção do contorno (unattended task). Essa tarefa era apresentada no lado oposto ao campo receptivo, evitando, assim, que efeitos atencionais endógenos influenciassem na resposta dos neurônios. Dessa maneira,

eles mostraram que a resposta neuronal foi significativamente maior sob o controle *top-down*. Entretanto, houve uma evidente correlação entre a resposta neuronal e a detecção do contorno mesmo sob o condições de controle *bottom-up*, confirmando a importância do componente pré-atencional para a saliência do contorno. De fato, experimentos em que os animais encontravam-se anestesiados também corroboram com essa ideia (Polat *et al.*, 1998; Mizobe *et al.*, 2001), assim como a tendência apresentada pelos nossos resultados. Nieder e Wagner (1999) mostraram que corujas suindaras são capazes de perceber contornos subjetivos definidos por lacunas ou grades adjacentes com fases diferentes e que os neurônios do wulst respondem a esses contornos subjetivos independente dos atributos locais. Nesse sentido, é importante destacar que Baron e colaboradores (2007) mostraram um efeito supressivo ocasionado por estímulos em orientação cruzada (*cross-inhibition*), indicando que o wulst apresenta regiões com preferência para diferentes orientações que são interconectadas por projeções laterais inibitórias. Além disso, Liu e Pettigrew (2003) revelaram presença de colunas de orientação no wulst visual de corujas suindaras. Esses dados sugerem que o wulst visual desempenha um papel importante na percepção da saliência ao contorno revelando uma complexidade funcional similar a áreas extra-estriadas de mamíferos (Nieder, 2002). Vale lembrar que as conexões entre hipercolunas formadas por projeções laterais de longo alcance bem como as interações de circuitos locais dentro e fora dessas hipercolunas em V1 apresentam-se como fortes evidências para explicar a saliência do contorno. Sendo assim, essa rede neurônios é responsável por gerar o balanço excitatório/inibitório que varia de acordo com orientação e contraste do estímulo (Gilbert *et al.*, 1996; Stettler *et al.*, 2002). Tendo isso em vista, nossos dados corroboram com a hipótese de múltiplos componentes da modulação centro-contorno já que observamos uma tendência a facilitação, em condições de estimulação não ótimas (baixos contrastes), bem como uma propensão para efeitos supressivos em condições ótimas (altos contrastes).

Por fim, outro fato interessante relatado em nosso estudo diz respeito aos neurônios que exibiram uma facilitação de sua resposta frente a gabors ortogonalmente orientados. Apesar desse efeito ser observado em apenas 3 neurônios (zona lateral) de nossa amostra esse é um indício de que ainda vale a pena investigar se a saliência à orientação (efeito *pop-out*) está representada no

wulst visual. Além disso, temos que levar em conta a natureza estímulos aqui utilizados, gabors estacionários, pois os neurônios do wulst são muito mais sensíveis a estímulos em movimento. Poderia-se perguntar se na verdade os efeitos facilitatórios presentes em nossos achados, deveram-se a intrusão dos flaqueadores em CRC, o que de fato poderia acontecer. Entretanto, além das condições controle (CRC 0% de contraste+flaqueadores), alguns poucos protocolos em que os flaqueadores eram colocados a uma distância considerável de CRC também produziram facilitação na resposta do neurônio registrado. Esses resultados não foram apresentados, pois realizamos apenas 4 protocolos como esse. Ainda, não podemos esquecer que todos os estudos aqui mencionados relatam uma considerável variação da resposta célula a célula. Evidentemente os resultados deste estudo não nos permitem afirmar que o processamento da saliência visual acontece no wulst de corujas *Tyto furcata*. Todavia, é necessário considerar que talvez esse fenômeno esteja limitado a uma camada ou a população específica de neurônios do wulst visual que receba retroalimentação de regiões com correspondência funcional a áreas extraestriadas de mamíferos, ou ainda que as operações engajadas na a saliência visual ocorram de forma não conhecida.

6 PERSPECTIVAS

As análises realizadas neste trabalho basearam-se no nível de resposta média dos neurônios (taxa de disparos) a um determinado padrão de estimulação. Todavia, fortes evidências nos levam a crer que essa dimensão não é única alternativa possível para pensar a codificação neural. Um interessante aspecto quando se trata em investigar as respostas dos neurônios diz respeito a maneira como os disparos de potenciais de ação se distribuem e se organizam ao longo do tempo. O padrão temporal de disparos de neurônios corticais, e não apenas a taxa de disparo, tem revelado fundamental importância para a codificação da informação visual (Victor & Purpura, 1996). No córtex visual primário, as repostas dos neurônios à grades senoidais estáticas apresentam um componente transiente muito mais proeminente que aquelas induzidas por grades senoidais em movimento (e.g. Muller *et al.*, 2001), o que também parece ser o caso do wulst como mostrado em nossos resultados. Mechler e colaboradores (1998) demonstraram que a estrutura temporal de resposta ao contraste carrega mais informação na porção transiente da resposta que em outros de seus componentes por se diferenciar de acordo com o tipo de estímulo. Além disso, vários estudos mostraram que a latência dos neurônios diminui na medida em que o contraste aumenta (Albrecht *et al.*, 2002; Gawne *et al.*, 1996; Reich *et al.*, 2001). Da mesma forma, vários estudos demonstraram que a latência das repostas dos neurônios em V1 é maior para estímulos que recrutam mecanismos modulatórios contextuais (e.g. barras ortogonalmente orientadas), sendo que o atraso em relação a latência quando estímulo é apresentado somente em CRC varia entre 15-60ms (Knierim & van Essen, 1992; Nothdurft *et al.*, 1999; Bair *et al.*, 2003).

Tendo em vista isso, uma análise temporal do dados coletados neste trabalho pode ser relevante para enriquecer nossas interpretações a respeito do processamento do contraste no wulst visual assim como a emergência da modulação contextual, a qual apresenta uma dinâmica diferente em relação às repostas elicitadas quando somente CRC é estimulado. Por fim, os efeitos observados em função da anisotropia do campo receptivo poderiam ser investigados de maneira integralizada utilizando múltiplas configurações de estímulos em um mesmo protocolo através do método de correlação reversa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albright, T. D., & Stoner, G. R. (2002). Contextual influences on visual processing. *Annual review of neuroscience*, 25(1), 339-379.

Albrecht, D. G., & Hamilton, D. B. (1982). Striate cortex of monkey and cat: contrast response function. *Journal of Neurophysiology*, 48(1), 217-237.

Albrecht, D. G., Geisler, W. S., Frazor, R. A., & Crane, A. M. (2002). Visual cortex neurons of monkeys and cats: temporal dynamics of the contrast response function. *Journal of Neurophysiology*, 88(2), 888-913.

Allman, J., Miezin, F., & McGuinness, E. (1985). Stimulus specific responses from beyond the classical receptive field: neurophysiological mechanisms for local-global comparisons in visual neurons. *Annual review of neuroscience*, 8(1), 407-430.

Alitto, H. J., & Usrey, W. M. (2008). Origin and dynamics of extraclassical suppression in the lateral geniculate nucleus of the macaque monkey. *Neuron*, 57, 135-146.

Angelucci, A., Levitt, J. B., Walton, E. J., Hupe, J. M., Bullier, J., & Lund, J. S. (2002). Circuits for local and global signal integration in primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 22, 8633-8646.

Angelucci, A., & Bressloff, P. C. (2006). The contribution of feedforward, lateral and feedback connections to the classical receptive field center and extra-classical receptive field surround of primate V1 neurons. *Progress in Brain Research*, 154, 93-121.

Angelucci, A., & Shushruth, S. (2014). Beyond the classical receptive field: Surround modulation in primary visual cortex. In L. M. Chalupa & J. S. Werner (Eds.), *The new visual neurosciences* (pp. 425-444). Cambridge: MIT Press.

Bair, W., Cavanaugh, J. R., & Movshon, J. A. (2003). Time course and time-distance relationships for surround suppression in macaque V1 neurons. *The Journal of Neuroscience*, 23(20), 7690-7701.

Barlow, H. B., Blakemore, C., & Pettigrew, J. D. (1967). The neural mechanism of binocular depth discrimination. *The Journal of physiology*, 193(2), 327.

Baron, J., Pinto, L., Dias, M. O., Lima, B., & Neuenschwander, S. (2007) Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. *European Journal of Neuroscience*, 26, 1950-196

Bergen, J. R., & Julesz, B. (1983). Parallel versus serial processing in rapid pattern discrimination. *Nature*, 303(5919), 696-698.

Blakemore, C., & Tobin, E. A. (1972). Lateral inhibition between orientation detectors in the cat's visual cortex. *Experimental Brain Research*, 15(4), 439-440.

Bruce, V., Green, P. R., & Georgeson, M. A. (2003). *Visual perception: Physiology, psychology, & ecology*. Psychology Press, 25-45.

- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2003). Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Science & Business Media.
- Carandini, M., & Heeger, D. J. (2012). Normalization as a canonical neural computation. *Nature Reviews Neuroscience*, 13, 51–62.
- Cavanaugh, J. R., Bair, W., & Movshon, J. A. (2002a). Nature and interaction of signals from the receptive field center and surround in macaque V1 neurons. *Journal of neurophysiology*, 88(5), 2530-2546.
- Cavanaugh, J. R., Bair, W., & Movshon, J. A. (2002b). Selectivity and spatial distribution of signals from the receptive field surround in macaque V1 neurons. *Journal of Neurophysiology*, 88(5), 2547-2556.
- Colihueque, N., Gantz, A., Rau, J. R., & Parraguez, M. (2015). Genetic divergence analysis of the Common Barn Owl *Tyto alba* (Scopoli, 1769) and the Short-eared Owl *Asio flammeus* (Pontoppidan, 1763) from southern Chile using COI sequence. *ZooKeys*, (534), 135.
- Contreras, D., & Palmer, L. (2003). Response to contrast of electrophysiologically defined cell classes in primary visual cortex. *The Journal of neuroscience*, 23(17), 6936-6945.
- Cook, R.G. (2001) Hierarchical stimulus processing in pigeons. In: R.G. Cook (ed) *Avian Visual Cognition* Disponível em: <<http://www.pigeon.psy.tufts.edu/avc>>. Acesso em; 11 out. 2015
- DeAngelis, G. C., Freeman, R. D., & Ohzawa, I. Z. U. M. I. (1994). Length and width tuning of neurons in the cat's primary visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 71(1), 347-374.
- De Valois, R.L., Yund, E.W. & Hepler, N. (1982) The Orientation and Direction Selectivity of Cells in Macaque Visual-Cortex. *Vision Research*, 22, 531-544.
- Duong, T., & Freeman, R. D. (2008). Contrast sensitivity is enhanced by expansive nonlinear processing in the lateral geniculate nucleus. *Journal of neurophysiology*, 99(1), 367-372.
- Emerson, R. C., & Gerstein, G. L. (1977). Simple striate neurons in the cat. I. Comparison of responses to moving and stationary stimuli. *Journal of neurophysiology*, 40(1), 119-135.
- Field, D. J., Hayes, A., & Hess, R. F. (1993). Contour integration by the human visual system: evidence for a local "association field". *Vision research*, 33(2), 173-193.
- Fux, M., & Eilam, D. (2009a). How barn owls (*Tyto alba*) visually follow moving voles (*Microtus socialis*) before attacking them. *Physiology & behavior*, 98(3), 359-366.

- Fux, M., & Eilam, D. (2009b). The trigger for barn owl (*Tyto alba*) attack is the onset of stopping or progressing of the prey. *Behavioural processes*, 81(1), 140-143.
- Gawne, T. J., Kjaer, T. W., & Richmond, B. J. (1996). Latency: another potential code for feature binding in striate cortex. *Journal of Neurophysiology*, 76(2), 1356-1360.
- Ghim, M. M., & Hodos, W. (2006). Spatial contrast sensitivity of birds. *Journal of Comparative Physiology A*, 192(5), 523-534.
- Gilbert, C. D., & Wiesel, T. N. (1990). The influence of contextual stimuli on the orientation selectivity of cells in primary visual cortex of the cat. *Vision research*, 30(11), 1689-1701.
- Gilbert, C. D., Das, A., Ito, M., Kapadia, M., & Westheimer, G. (1996). Spatial integration and cortical dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(2), 615-622.
- Girman, S. V., Sauvé, Y., & Lund, R. D. (1999). Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. *Journal of neurophysiology*, 82(1), 301-311.
- Harmening, W.M., Vobig, M.A, Walter, P., Wagner, H. (2007) .Ocular aberrations in barn owl eyes. *Vision research*, (47) 2934-2942.
- Harmening, W.M., & Wagner, H. (2009). Spatial contrast sensitivity and grating acuity of barn owls. *Journal of Vision*. 9, 1-12.
- Harmening, W. M., & Wagner, H. (2011a). From optics to attention: visual perception in barn owls. *Journal of Comparative Physiology A*, 197(11), 1031-1042.
- Harmening, W. M., Orłowski, J., Ben-Shahar, O., & Wagner, H. (2011b). Overt attention toward oriented objects in free-viewing barn owls. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8461-8466.
- Hartline, H. K. (1938). The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *American Journal of Physiology Legacy Content*, 121(2), 400-415.
- Heimel, J. A., Van Hooser, S. D., & Nelson, S. B. (2005). Laminar organization of response properties in primary visual cortex of the gray squirrel (*Sciurus carolinensis*). *Journal of neurophysiology*, 94(5), 3538-3554.
- Hu, M., Wang, Y., & Wang, Y. (2011). Rapid dynamics of contrast responses in the cat primary visual cortex. *PLoS One*, 6(10), e25410.
- Hubel, David H., and Torsten N. Wiesel. (1965). Receptive fields and functional architecture in two nonstriate visual areas (18 and 19) of the cat. *Journal of Neurophysiology*.

- Hubel, D. H., & Wiesel, T. N. (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *The Journal of physiology*, 195(1), 215-243.
- Hubel, D. H., and Wiesel, T. N. (1977). Ferrier Lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex, *Proc. R. Soc. Lond. B*, 198:1–59
- Ichida, J. M., Schwabe, L., Bressloff, P. C., & Angelucci, A. (2007). Response facilitation from the “suppressive” receptive field surround of macaque V1 neurons. *Journal of Neurophysiology*, 98, 2168–2181.
- Itti, L., Koch, C., & Niebur, E. (1998). A model of saliency-based visual-attention for rapid scene analysis. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 20, 1254–1259.
- Itti, L., & Koch, C. (2000). A saliency-based search mechanism for overt and covert shifts of visual attention. *Vision research*, 40(10), 1489-1506.
- Jiang, Y., Yampolsky, D., Purushothaman, G., & Casagrande, V. (2013). Neural sensitivity in the lateral geniculate nucleus (LGN) of awake, behaving monkeys during a contrast detection task: comparison of neurometric and psychometric functions. *Journal of Vision*, 13(9), 1026-1026.
- Jones, H. E., Grieve, K. L., Wang, W., & Sillito, A. M. (2001). Surround suppression in primate V1. *Journal of Neurophysiology*, 86(4), 2011-2028.
- Jones, H. E., Wang, W., & Sillito, A. M. (2002). Spatial organization and magnitude of orientation contrast interactions in primate V1. *Journal of neurophysiology*, 88(5), 2796-2808.
- Kapadia, M. K., Ito, M., Gilbert, C. D., & Westheimer, G. (1995). Improvement in visual sensitivity by changes in local context: parallel studies in human observers and in V1 of alert monkeys. *Neuron*, 15(4), 843-856.
- Kapadia, M. K., Westheimer, G., & Gilbert, C. D. (1999). Dynamics of spatial summation in primary visual cortex of alert monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(21), 12073-12078.
- Karten, H.J., Hodos, W., Nauta, W.J.H. & Revzin, A.M. (1973) Neural Connections of Visual-Wulst of Avian Telencephalon - Experimental Studies in Pigeon (*Columba-Livia*) and Owl (*Speotyto-Cunicularia*). *Journal of Comparative Neurology*, 150, 253-277.
- Knierim, J. J., & Van Essen, D. C. (1992). Neuronal responses to static texture patterns in area V1 of the alert macaque monkey. *Journal of Neurophysiology*, 67(4), 961-980.
- Knudsen, E.I. (1982) Auditory and Visual Maps of Space in the Optic Tectum of the Owl. *Journal of Neuroscience*, 2, 1177-1194.

- Koch, C., & Ullman, S. (1985). Shifts in selective visual attention: towards the underlying neural circuitry. *Human Neurobiology*, 4, 219 – 227.
- Lamme, V. A. F. (1995). The neurophysiology of figure–ground segregation in primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 15, 1605–1615.
- Lamme, V. A. F. (2004) “Beyond the classical receptive field: contextual modulation of V1 responses.” In: *The visual neurosciences*. Chalupa & Werner (Eds). A Bradford book The Mit Oress Cambridge, Massachusetts,720-732.
- Ledgeway, T., Zhan, C. A., Johnson, A. P., Song, Y., & Baker, C. L. (2005). The direction-selective contrast response of area 18 neurons is different for first-and second-order motion. *Visual neuroscience*, 22(01), 87-99.
- Levitt, J. B., & Lund, J. S. (1997). Contrast dependence of contextual effects in primate visual cortex. *Nature*, 387, 73–76
- Lewicki,M.S. (1998) A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network.*, 9, R53-R78
- Livingstone, M. S., and Hubel, D. H. (1988). Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception, *Science*, 240:740–749.
- Li, W., Piëch, V., & Gilbert, C. D. (2006). Contour saliency in primary visual cortex. *Neuron*, 50(6), 951-962.
- Liu GB, Pettigrew JD (2003) Orientation mosaic in barn owl’s visual Wulst revealed by optical imaging: comparison with cat and monkey striate and extra- striate areas. *Brain Res* 961: 153–158.
- Maffei, L., & Fiorentini, L. (1976). The unresponsive regions of visual cortical receptive fields. *Vision Research*, 16, 1131– 1139.
- Martin, G.R. & Gordon, I.E. (1974). Increment-threshold spectral sensitivity in the tawny owl (*Strix aluco*). *Vision Res.* 14, 615-621
- Martin, G.R. (2007) Visual fields and their functions in birds. *J. Ornithol.* 147, 574-562
- Mizobe, K., Polat, U., Pettet, M. W., & Kasamatsu, T. (2001). Facilitation and suppression of single striate-cell activity by spatially discrete pattern stimuli presented beyond the receptive field. *Visual neuroscience*, 18(03), 377-391.
- Mechler, F., Victor, J. D., Purpura, K. P., & Shapley, R. (1998). Robust temporal coding of contrast by V1 neurons for transient but not for steady-state stimuli. *The Journal of neuroscience*, 18(16), 6583-6598.
- Müller, J. R., Metha, A. B., Krauskopf, J., & Lennie, P. (2001). Information conveyed by onset transients in responses of striate cortical neurons. *The Journal of Neuroscience*, 21(17), 6978-6990.

- Nelson, J. I., & Frost, B. J. (1978). Orientation-selective inhibition from beyond the classic visual receptive field. *Brain research*, 139(2), 359-365.
- Nelson, J. I., & Frost, B. (1985). Intracortical facilitation among co-oriented, co-axially aligned simple cells in cat striate cortex. *Experimental Brain Research*, 61, 54–61.
- Nieder A, Wagner H (1999) Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. *Nat Neurosci* 2:660–663.
- Nieder A (2002) Seeing more than meets the eye: processing of illusory contours in animals. *J Comp Physiol A* 188:249–260.
- Niell, C. M., & Stryker, M. P. (2008). Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, 28(30), 7520-7536.
- Nijman, V., & Aliabadian, M. (2013). DNA barcoding as a tool for elucidating species delineation in wide-ranging species as illustrated by owls (Tytonidae and Strigidae). *Zoological science*, 30(11), 1005-1009.
- Nothdurft, H. C., Gallant, J. L., & van Essen, D. C. (1999). Response modulation by texture surround in primate area V1: correlates of “popout” under anesthesia. *Visual neuroscience*, 16(01), 15-34.
- Nurminen, L., Peromaa, T., & Laurinen, P. (2010). Surround suppression and facilitation in the fovea: very long-range spatial interactions in contrast perception. *Journal of Vision*, 10(13), 9-9.
- Nurminen, L., & Angelucci, A. (2014). Multiple components of surround modulation in primary visual cortex: multiple neural circuits with multiple functions?. *Vision research*, 104, 47-56.
- Ohayon, S., Harmening, W., Wagner, H., & Rivlin, E. (2008). Through a barn owl's eyes: interactions between scene content and visual attention. *Biological cybernetics*, 98(2), 115-132.
- Orlowski, J., Harmening, W., & Wagner, H. (2012). Night vision in barn owls: Visual acuity and contrast sensitivity under dark adaptation. *Journal of vision*, 12(13), 4-4.
- Orlowski, J., Beissel, C., Rohn, F., Adato, Y., Wagner, H., & Ben-Shahar, O. (2015). Visual pop-out in barn owls: Human-like behavior in the avian brain. *Journal of vision*, 15(14), 4-4.
- Pasternak, T., & Merigan, W. H. (1981). The luminance dependence of spatial vision in the cat. *Vision research*, 21(9), 1333-1339.
- Persi, E., Hansel, D., Nowak, L., Barone, P., & Van Vreeswijk, C. (2011). Power-law input-output transfer functions explain the contrast-response and tuning properties of neurons in visual cortex. *PLoS Comput Biol*, 7(2), e1001078.

- Pettigrew JD, Konishi M (1976) Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual Wulst of the barn owl (*Tyto alba*). *Science* 193: 675–678.
- Pettigrew, J. D. (1979). Binocular visual processing in the owl's telencephalon. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 204(1157), 435-454.
- Pinto, L., & Baron, J. (2009). Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. *European Journal of Neuroscience*, 30(7), 1251-1268.
- Pinto, L., & Baron, J. (2010). Spatiotemporal frequency tuning dynamics of neurons in the owl visual wulst. *Journal of neurophysiology*, 103(6), 3424-3436.
- Pinto, Y., van der Leij, A. R., Sligte, I. G., Lamme, V. A., & Scholte, H. S. (2013). Bottom-up and top-down attention are independent. *Journal of vision*, 13(3), 16-16.
- Poggio, G. F., (1995). Mechanisms of stereopsis in monkey visual cortex, *Cereb. Cortex*, 3:193–204.
- Polat, U., & Sagi, D. (1993). Lateral interactions between spatial channels: suppression and facilitation revealed by lateral masking experiments. *Vision research*, 33(7), 993-999.
- Polat, U., Mizobe, K., Pettet, M. W., Kasamatsu, T., & Norcia, A. M. (1998). Collinear stimuli regulate visual responses depending on cell's contrast threshold. *Nature*, 391(6667), 580-584.
- Reches A, Gutfreund Y (2008) Stimulus-specific adaptations in the gaze control system of the barn owl. *J Neurosci* 28: 1523–1533.
- Reich, D. S., Mechler, F., & Victor, J. D. (2001). Temporal coding of contrast in primary visual cortex: when, what, and why. *Journal of neurophysiology*, 85(3), 1039-1050.
- Sclar, G., Maunsell, J. H., & Lennie, P. (1990). Coding of image contrast in central visual pathways of the macaque monkey. *Vision research*, 30(1), 1-10.
- Sceniak, M. P., Ringach, D. L., Hawken, M. J., & Shapley, R. (1999). Contrast's effect on spatial summation by macaque V1 neurons. *Nature neuroscience*, 2(8), 733-73.
- Schiller, P. H., B. L. Finlay, and S. F. Volman. (1996). Quantitative studies of single cell properties in monkey striate cortex. I–V, *J. Neurophysiol.*, 39:1288–1374 .
- Schmid, A. M., & Victor, J. D. (2014). Possible functions of contextual modulations and receptive field nonlinearities: pop-out and texture segmentation. *Vision research*, 104, 57-67.

- Schwabe, L., Obermayer, K., Angelucci, A., & Bressloff, P. C. (2006). The role of feedback in shaping the extra-classical receptive field of cortical neurons: a recurrent network model. *The Journal of Neuroscience*, 26(36), 9117-9129.
- Schwabe, L., Ichida, J. M., Shushruth, S., Mangapathy, P., & Angelucci, A. (2010). Contrast-dependence of surround suppression in Macaque V1: experimental testing of a recurrent network model. *Neuroimage*, 52(3), 777-792.
- Shimizu T.; Bowers AN.(1999). Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behav Brain Res* 98: 183-191.
- Shushruth, S., Ichida, J. M., Levitt, J. B., & Angelucci, A. (2009). Comparison of spatial summation properties of neurons in macaque V1 and V2. *Journal of neurophysiology*, 102(4), 2069-2083.
- Series, P., Lorenceau, J., & Frégnac, Y. (2003). The “silent” surround of V1 receptive fields: theory and experiments. *Journal of physiology-Paris*, 97(4), 453-474.
- Sillito, A. M., Grieve, K. L., Jones, H. E., Cudeiro, J., & Davis, J. (1995). Visual cortical mechanisms detecting focal orientation discontinuities. *Nature*, 378, 492–496.
- Sillito, A. M., & Jones, H. E. (1996). Context-dependent interactions and visual processing in V1. *Journal of Physiology-Paris*, 90(3), 205-209.
- Simoncelli, E. P., & Olshausen, B. A. (2001). Natural image statistics and neural representation. *Annual review of neuroscience*, 24(1), 1193-1216.
- Somers, D. C., Todorov, E. V., Siapas, A. G., Toth, L. J., Kim, D. S., & Sur, M. (1998). A local circuit approach to understanding integration of long-range inputs in primary visual cortex. *Cerebral Cortex*, 8(3), 204-217.
- Stemmler, M., Usher, M., & Niebur, E. (1995). Lateral interactions in primary visual cortex: a model bridging physiology and psychophysics. *Science*, 269, 1877–1880.
- Stettler, D. D., Das, A., Bennett, J., & Gilbert, C. D. (2002). Lateral connectivity and contextual interactions in macaque primary visual cortex. *Neuron*, 36(4), 739-750.
- Steinbach, M. J., & Money, K. E. (1973). Eye movements of the owl. *Vision research*, 13(4), 889-891.
- Treisman, A. M., & Gelade, G. (1980). A feature-integration theory of attention. *Cognitive psychology*, 12(1), 97-136.
- Treisman, A. (1982). Perceptual grouping and attention in visual search for features and for objects. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 8(2), 194.

Turchetti-Maia, A. (2011). 130f. Modulação centro-contorno em campos receptivos do wulst visual – Tese (Doutorado em Fisiologia) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG. 2011

van der Willigen, R.F., Frost, B.J. & Wagner, H. (2002). Depth generalization from stereo to motion parallax in the owl. *J. Comp Physiol A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol* 187, 997-1007.

van der Willigen, R.F., Frost, B.J. & Wagner, H. (2003). How owls structure visual information. *Anim Cogn* (6) 39-55

Victor, J. D., & Purpura, K. P. (1996). Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis. *Journal of neurophysiology*, 76(2), 1310-1326.

Vieira, P. G., Sousa, J. P. M., Baron, J. (2016). Contrast response function in the owl visual wulst: A single-unit study. *Journal of Neurophysiology. Manuscript*

Walker, G. A., Ohzawa, I., & Freeman, R. D. (1999). Asymmetric suppression outside the classical receptive field of the visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, 19(23), 10536-10553.

Wagner, H., Kettler, L., Orłowski, J., & Tellers, P. (2013). Neuroethology of prey capture in the barn owl (*Tyto alba* L.). *Journal of Physiology-Paris*, 107(1), 51-61.

Wathey, J. C. and Pettigrew, JD (1989). Quantitative analysis of the retinal ganglion cell layer and optic nerve of the Barn Owl *Tyto alba*. *Brain Behav. Evol*, 33, 279-292.

Zahar, Y., Wagner, H., & Gutfreund, Y. (2012). Responses of tectal neurons to contrasting stimuli: an electrophysiological study in the barn owl. *PloS one*, 7(6), e39559.

Zipser, K., V. A. F. Lamme, and P. H. Schiller. (1996). Contextual modulation in primary visual cortex, *J. Neurosci.*, 16:7376–7389.

