

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Fisiologia e Biofísica  
Programa de Pós – Graduação em Fisiologia e Farmacologia

## **Tese de Doutorado**

Estudo da seletividade neuronal à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara (*Tyto alba*): dinâmica de surgimento e separabilidade interdimensional

Claudiana Souza de Amorim

Belo Horizonte, 2016.

**CLAUDIANA SOUZA DE AMORIM**

**Estudo da seletividade neuronal à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara (*Tyto alba*): dinâmica de surgimento e separabilidade interdimensional**

**Tese 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 Doutor em Ciências Biológicas.**

**Área de concentração: Fisiologia**

**Orientador: Prof. Dr. Jerome Baron**

**BELO HORIZONTE**

**2016**

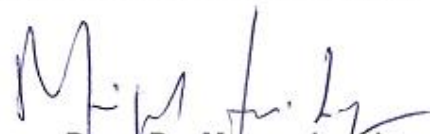
Esta tese foi realizada no Laboratório de Neurodinâmica do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação do Prof. Dr. Jerome Baron, e contou com o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e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

**"ESTUDO DA SELETIVIDADE NEURONAL À ORIENTAÇÃO E  
FREQUÊNCIA ESPACIAL NO WULST VISUAL DA CORUJA  
SUINDARA (TYTO ALBA): DINÂMICA DE SURGIMENTO E  
SEPARABILIDADE INTERDIMENSIONAL"**


**CLAUDIANA SOUZA DE AMORIM**

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia 29 de abril de 2016, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

  
**PROF. DR. HENRIQUE RESENDE MARTINS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

  
**PROF. DR. MIGUEL JOSÉ LOPES**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

  
**PROF. DR. RUBEN ERNESTO DE BITTENCOURT NAVARRETE**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

  
**PROF. DR. VINÍCIUS ROSA COTA**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

  
**PROF. DR. JEROME PAUL ARMAND LAURENT BARON**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ORIENTADOR

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia  
Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

**Belo Horizonte, 29 de abril de 2016**

**Ao meus pais: Amália S. de Amorim e Flávio A. de Amorim**

## **AGRADECIMENTOS**

“Não há no mundo exagero mais belo que a gratidão.” Jean de La Bruyère

Agradeço primeiramente a Deus. A Ele devo tudo que sou e tudo que tenho.

Também aos meus pais, que por meio de um amor incondicional não mediram esforços para fornecer todo o apoio necessário. Não tenho palavras para agradecer a vocês. Eu os amo muito.

Agradeço também ao meu orientador, pela confiança e especialmente pela paciência. É um privilégio aprender com você durante todos esses anos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Neurodinâmica, por tudo! Em especial a Adriano de Jesus, Ana Luiza Turchetti, Cintia Garcia, João Paulo Machado, Leonardo Peixoto, Marco Aurélio Borges, Mozar Costa e Pedro Vieira.

Aos amigos não pertencentes a esse mundo acadêmico. Os amigos são a família que escolhemos para nós neste mundo. Vocês souberam entender os momentos de ausência e compartilharam comigo muitas tristezas e alegrias.

Ao Lucas Ferraz, meu príncipe, meu amigo. Você chegou no momento certo da minha vida e soube compreender essa fase pela qual estou passando. Obrigada pelo apoio, pela compreensão e pela torcida.

Ao médico anestesista Dr. Gláucio Gregori Bonfá e ao médico anestesista veterinário Oscar Henriques Rocha Ladeira.

Às corujas, que foram importantíssimas na construção desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do ICB, em especial, as secretárias Cíntia Menezes, Nilda Lucas Laurindo e ao Rodner Rodrigues.

E por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro.

Obrigada a todos!

"Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes."

Isaac Newton

## RESUMO

O sistema visual da coruja suindara vem sendo alvo de vários estudos ao longo dos anos. O wulst visual é uma região telencefálica que recebe as aferências talâmicas e que apresenta certa analogia funcional com o córtex visual primário de mamíferos. Os estudos da década de 70 do século passado demonstraram que os neurônios do wulst são seletivos à orientação, porém poucos trabalhos desde então, foram realizados investigando tal propriedade. Igualmente, a seletividade a frequência espacial (FE) ainda não tinha sido investigada de forma mais criteriosa. Assim, no presente estudo, foram investigadas a seletividade à orientação e à frequência espacial, suas dinâmicas temporais e a relação entre as duas dimensões, por meio da técnica de correlação reversa. Um total de 63 células foram isoladas em 5 corujas suindaras sedadas (*Tyto alba*), usando técnicas padrões de registros extracelulares. Os estímulos utilizados foram grades senoidais variando em orientação ( $n=12$ , passos de  $15^\circ$ ), frequência espacial ( $n=6$  a  $8$ , passos de 1 oitava) e fase ( $n=8$  ou  $4$ , passos de  $45^\circ$  ou  $90^\circ$ ). As curvas de seletividade à orientação foram ajustadas por meio de uma função von Mises e as curvas de seletividade à frequência espacial por meio de uma gaussiana modificada (Priebe *et al.*, 2006) e dessas curvas foram extraídos os parâmetros como largura de banda e orientação e FE preferidas. Os neurônios do wulst são seletivos para a orientação e frequência espacial, sendo estas seletividades bem heterogêneas. A média das larguras de banda encontradas foi:  $26,78^\circ$  e  $2,54$  oitavas. Foram caracterizadas as dinâmicas temporais de ambas as seletividades e as mesmas emergem rapidamente no wulst visual (em torno de  $30 - 43$  ms), e as durações das mesmas variam de célula para célula. Essas seletividades emergem provavelmente devido a processos talâmicos excitatórios, e, além disso, há indícios de mecanismos inibitórios intra-wulst, especialmente relacionados a estímulos não-otimais. Há uma inseparabilidade entre as duas dimensões, ou seja, a seletividade à orientação é influenciada pela frequência espacial, de maneira que as células se tornam mais seletivas ao aumentar-se a frequência. Novas investigações são necessárias para melhor compreensão acerca dos mecanismos inibitórios relacionados à emergência dessas seletividades.

**Palavras chave:** Coruja suindara, wulst, seletividade à orientação, seletividade à frequência espacial, evolução do cérebro.



## ABSTRACT

The visual system of barn owl has been the target of numerous studies along the years. The visual wulst is a telencephalic region that receives thalamic afferents and which has certain functional analogy to the mammals primary visual cortex. Studies of the 70s of the last century showed that wulst neurons are selective to the orientation, but few studies have been carried out investigating such property. Likewise, the spatial frequency (SF) selectivity had not been investigated more thoroughly. In the present study, we investigated selectivity orientation and spatial frequency selectivity, its temporal dynamics and the relationship between these two dimensions by reverse correlation technique. A total of 63 cells were isolated in 5 sedated barn owls (*Tyto alba*), using standard techniques of extracellular records. The stimuli used were sinusoidal gratings varying in orientation ( $n = 12$ ,  $15^\circ$  steps), spatial frequency ( $n = 6-8$ , 1 octave steps) and phase ( $n = 8$  or  $4$ ,  $45^\circ$  or  $90^\circ$  steps). The orientation tuning curves were fitted by a function von Mises and the spatial frequency tuning curves by a modified Gaussian (Priebe et al., 2006) and these curves parameters such as bandwidth and preferred orientation and SF were extracted. The wulst neurons are highly selective for orientation and spatial frequency, and such selectivity are heterogeneous. The mean bandwidths found are:  $26,78^\circ$  and 2.54 octaves. Temporal dynamics were characterized for both selectivity and they rapidly emerged (around 30 - 43 msec) and their duration vary from cell to cell. These selectivities emerge probably due to excitatory thalamic processes, and in addition, there is evidence of intra-wulst inhibitory mechanisms, especially those related to non-optimal stimuli. There is an inseparability of the two dimensions, i.e. the orientation selectivity is influenced by spatial frequency, so that the cells become more selective as frequency increases. Further investigations are needed to better understanding about the inhibitory mechanisms related to the emergence of these selectivities.

**Keywords:** Barn owl, wulst, orientation selectivity, spatial frequency selectivity, brain evolution

## LISTA DE ABREVIATURAS

F - fóvea

FE - Frequência espacial

FT- Frequência temporal

HA - *hyperstriatum acessorium*

HD - *hyperstriatum dorsale*

HIS - *hyperstriatum calatus superior*

IHA – núcleo intercalado do *hyperstriatum acessorium*

LB - largura de banda

NGL- núcleo geniculado lateral

P - pecten

SAFE - supressão a altas frequências espaciais

SBFE - supressão a baixas frequências espaciais

Va - valécula

VC - variância circular

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Diagrama esquemático das relações filogenéticas no grupo dos amniotas.	pg.18
Figura 1.2 Representação das vias visuais em mamíferos e aves.	pg.19
Figura 1.3 Coruja suindara ( <i>Tyto alba</i> )	pg.21
Figura 1.4 Desenho esquemático das vias visuais da coruja.	pg.24
Figura 1.5 Desenho esquemático da organização e projeções da via talamofugal na coruja suindara	pg.25
Figura 1.6 Foto com vista frontal de um cérebro de coruja suindara	pg.26
Figura 1.7 Organização laminar do wulst visual	pg.27
Figura 3.1 Visão geral do setup experimental	pg.35
Figura 3.2 Exemplo de parte da sequência de grades senoidais utilizadas na estimulação	pg.39
Figura 3.3 Ilustração do método da correlação reversa	pg.41
Figura 3.4 Cálculo das latências	pg.42
Figura 3.5 Representação da organização topográfica do wulst	pg.45
Figura 4.1 Ilustração do modelo de Hubel e Wiesel	pg.49
Figura 4.2 Resposta neuronal à orientação ao longo do tempo	pg.52
Figura 4.3 Dinâmica temporal da seletividade à orientação	pg.53
Figura 4.4 Dinâmica temporal da seletividade à orientação, dados populacionais	pg.54
Figura 4.5 Distribuição dos valores de R-square	pg.55
Figura 4.6 Medidas de seletividade à orientação	pg.56
Figura 4.7 Relação entre medidas de seletividade à orientação	pg.57

Figura 4.8 Curvas de seletividade à orientação	pg.59
Figura 4.9 Relação entre medidas de seletividade à orientação e inibição	pg.60
Figura 4.10 Largura de Banda em função do tempo	pg.61
Figura 4.11 Diferenças da orientação preferida e da Largura de Banda (LB) entre as latências	pg.62
Figura 4.12 Dinâmica temporal da Variância Circular (VC)	pg.64
Figura 4.13 Correlação de parâmetros de precisão das curvas de orientação obtidos por diferentes estimulações	pg.66
Figura 4.14 Resposta neuronal a estimulação com 20ms vs.50ms por quadro	pg.68
Figura 5.1 Representação da hipótese dos múltiplos canais seletivos a frequência espacial	pg.75
Figura 5.2 Dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial	pg.78
Figura 5.3 Dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial, dados populacionais	pg.79
Figura 5.4 Distribuição dos valores de R-square	pg.80
Figura 5.5 Medida da seletividade à frequência espacial	pg.81
Figura 5.6 Análise da dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial	pg.82
Figura 5.7 Frequência espacial preferida em função do tempo	pg.83
Figura 5.8 Análise da dinâmica temporal da frequência espacial preferida	pg.84
Figura 5.9 Correlação entre taxa de inibição à Baixa Frequência Espacial e à medida de seletividade global SBFÉ	pg.86
Figura 5.10 Função de sensibilidade ao contraste em diferentes espécies	pg.90
Figura 6.1 Sensibilidade de dois neurônios a duas diferentes dimensões	pg.93
Figura 6.2 Relação entre orientação e frequência espacial	pg.95

Figura 6.3 Variação da LB em função da frequência espacial	pg.96
Figura 6.4 Relação entre a orientação e a frequência espacial a nível populacional	pg.97
Figura 6.5 Análise populacional da relação entre a orientação e a frequência espacial	pg.98
Figura 6.6 Correlação entre as medidas de seletividade à orientação e à frequência espacial	pg.99

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
1.1. Introdução geral	17
1.2. A coruja suindara e seu sistema visual	20
1.2.1. Olhos	22
1.2.2. Vias	23
1.2.3. Wulst	25
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>28</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>30</b>
3.1. Obtenção e cuidados com os animais	31
3.2. Familiarização dos animais com o ambiente experimental	31
3.3. Procedimentos cirúrgicos	31
3.4. Registros eletrofisiológicos extracelulares	32
3.4.1. Considerações sobre a sedação	32
3.4.2. Dispositivo multieletrodos	33
3.4.3. Registro dos sinais neuronais	34
3.5. Estimulação visual	36
3.5.1. Mapeamento dos campos receptores	37
3.5.2. Protocolo experimental	38
3.6. Análise dos dados	39
3.6.1. Separação dos potenciais de ação ( <i>Spike sorting</i> )	39
3.6.2. Critérios de exclusão.	40
3.6.3. Correlação Reversa	40
3.6.4. Cálculo das latências	42
3.6.5. Análise da seletividade à orientação	43
3.6.6. Análise da seletividade à frequência espacial	44
3.6.7. Estatística geral	44
3.6.8. Confirmação dos sítios de registro	45
<b>4. SELETIVIDADE À ORIENTAÇÃO</b>	<b>47</b>
4.1. Introdução	48
4.2. Resultados	52
4.2.1. Dinâmica temporal e caracterização da seletividade à orientação	52
4.2.2. Mecanismos	57
4.2.3. Separabilidade orientação e tempo	60
4.2.4. Considerações metodológicas	64
4.2.4.1. Correlação Reversa versus estimulação em regime Permanente	64
4.2.4.2. Tempo de estimulação	67

4.3. Discussão	69
4.3.1. Síntese dos resultados	69
4.3.2. Comparação com estudos prévios no córtex visual primário	70
4.3.3. Consequência funcional	72
<b>5. SELETIVIDADE À FREQUÊNCIA ESPACIAL</b>	<b>74</b>
5.1. Introdução	75
5.2. Resultados	78
5.2.1. Dinâmica temporal e caracterização da seletividade à frequência espacial	78
5.2.2. Separabilidade da frequência espacial e tempo	81
5.2.3. Inibição intra-wulst e seletividade a frequência espacial	85
5.3. Discussão	87
5.3.1. Síntese dos resultados	87
5.3.2. Comparação com estudos prévios no córtex visual primário	87
5.3.3. Consequência funcional	89
<b>6. SEPARABILIDADE INTERDIMENSIONAL</b>	<b>91</b>
6.1. Introdução	92
6.2. Resultados	95
6.2.1. Separabilidade interdimensional	95
6.2.2. Relação entre a seletividade à orientação e à frequência espacial	99
6.3. Discussão	100
6.3.1. Síntese dos resultados e comparação com estudos prévios no córtex visual primário	100
<b>7. DISCUSSÃO GERAL</b>	<b>102</b>
7.1. Discussão geral	103
7.1.1. Síntese dos resultados	103
7.1.2. Perspectivas	103
7.1.3. Conclusão	104
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>105</b>

# Capítulo 1

## Introdução

---

---



## 1.1.Introdução Geral

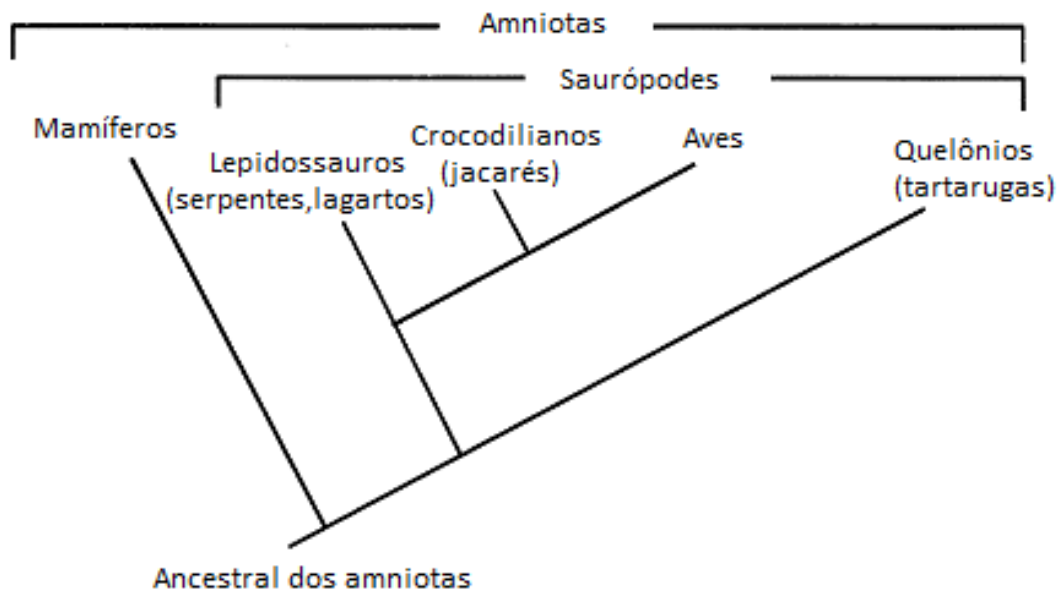
A percepção é a habilidade de um organismo de detectar estruturas e eventos ao seu redor. Requer, portanto, que o mesmo seja capaz de ser sensível a pelo menos uma forma de energia que transmita informações sobre o meio em que tal organismo está inserido. Uma forma de energia capaz de prover essas informações é a luz e muitos animais são capazes de perceber seu meio ambiente por meio da visão (Bruce, 2006).

Assim, ao longo dos milhares de anos de evolução os animais vertebrados desenvolveram estruturas capazes de detectar, transduzir o sinal eletromagnético em um sinal neural, transmitir a áreas capazes de processar esse sinal e conceber a representação do mundo que os cerca. A estrutura básica do encéfalo dos vertebrados se manteve ao longo do subfilo, apesar de algumas mudanças no tamanho relativo das estruturas bem como diferenças organizacionais e de complexidade de algumas áreas. Essas mudanças, provavelmente, ocorreram em função da história evolutiva de cada espécie em decorrência das pressões seletivas do ambiente (Shimizu e Bowers, 1999; Dalgarrondo, 2011; Karten, 2015).

Dentro desse contexto, originam-se questões intrigantes: até que ponto os mecanismos subjacentes a codificação neuronal dos atributos de uma cena visual se apresentam filogeneticamente conservados entre os vertebrados? É possível identificar princípios computacionais gerais para processos semelhantes de integração perceptual em espécies cujo sistema visual foi moldado por diferentes pressões internas e externas como resultantes de histórias evolutivas separadas?

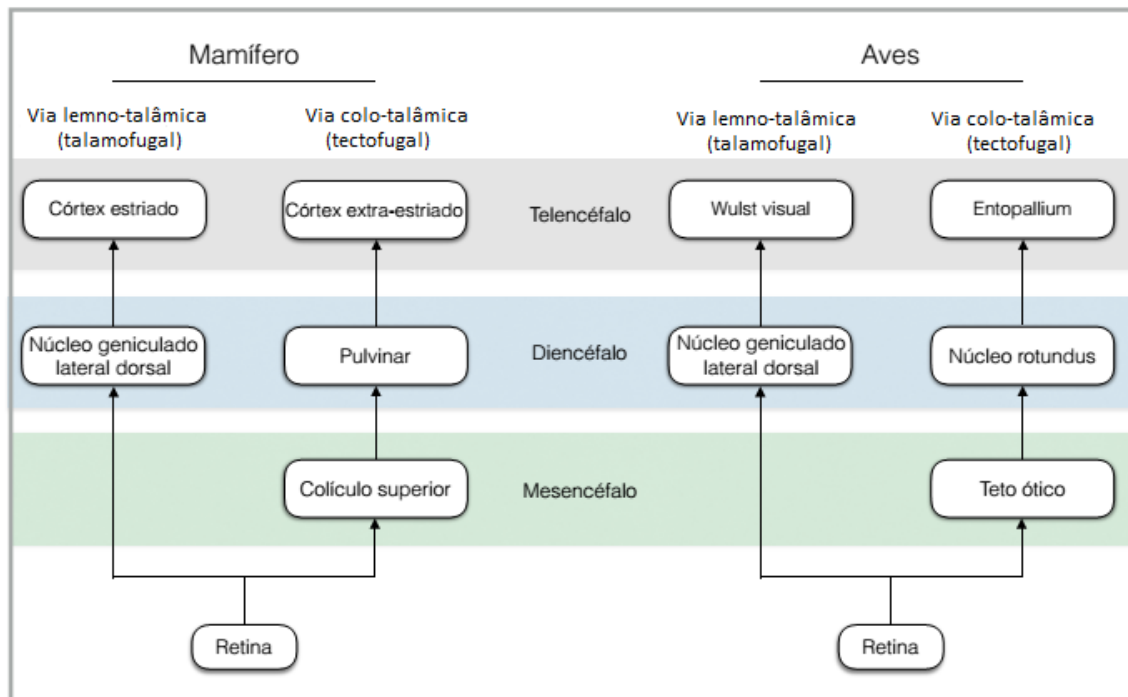
Uma forma de compreender se esses mecanismos neuronais são conservados e tentar responder a essas questões seria comparando sistemas e processamentos visuais de diferentes grupos filogenéticos. Dentro do grupo dos amniotas, as classes dos mamíferos e aves, por exemplo, possuem uma estrutura encefálica básica semelhante, com algumas particularidades organizacionais fruto de suas histórias evolucionárias. Esses dois grupos compartilham de um mesmo ancestral comum, mas a separação entre eles ocorreu em torno de 300 milhões de anos (figura 1.1) e provavelmente sofreram pressões seletivas diferentes, resultando, portanto, na estrutura

encefálica atual bem como na organização do sistema visual encontrado nos dois grupos (Shimizu e Bowers, 1999).



**Figura 1.1.** Diagrama esquemático das relações filogenéticas no grupo dos amniotas. Traduzido de Shimizu e Bowers, 1999.

Tanto os mamíferos quanto as aves apresentam duas vias paralelas de processamento visual da retina até as áreas telencefálicas: a talamofugal e a tectofugal (figura 1.2). Os dois grupos apresentam uma homologia hodológica, já que as vias compartilham similaridades em termos de organização topográfica e conexões. Além disso, diversos estudos anatômicos, histológicos, bioquímicos e fisiológicos tem demonstrado as similaridades entre as vias nos dois grupos, provavelmente oriundas do ancestral em comum. Porém, há também diferenças, e a principal delas se refere ao grau de desenvolvimento das vias. Em mamíferos, o processamento visual é desempenhado principalmente pela via talamofugal. Essa via parte da retina, passa pelo núcleo geniculado lateral (NGL) do tálamo e chega ao córtex visual primário (V1) do qual projeções para diversas áreas corticais visuais são estabelecidas. Nas aves, a via predominante é a tectofugal. As fibras partem da retina em direção ao teto óptico, passa pelo núcleo rotundus do tálamo, e finalmente projetam-se para o *entopallium*. (Shimizu e Bowers, 1999; Livingstone e Hubel, 1988, Nassi e Callaway, 2009, Karten, 2015).



**Figura 1.2.** Representação das vias visuais em mamíferos e aves. Os dois grupos apresentam duas vias paralelas de processamento visual: a talamofugal e tectofugal. Nos mamíferos a via mais desenvolvida é talamofugal e nas aves, em geral, é a tectofugal. As corujas são a exceção desse último grupo, apresentando como via principal a talamofugal.

Dentro do grupo das aves, a coruja se destaca e se torna interessante uma vez que a sua via principal de processamento visual, a talamofugal, é semelhante à de mamíferos. Essa singularidade evolutiva da coruja em relação a sua ordem filogenética apresenta-se, num primeiro nível de análise anatômica, como uma hipertrofia das áreas pertencentes à via talamofugal: enquanto estima-se que 90% das projeções retino-fugais se integram ao teto ótico numa ave 'padrão' como o pombo (Shimizu e Karten, 1993), estima-se que essa mesma proporção caracteriza a projeção retina-NGL do tálamo na coruja. E assim, a área telencefálica que recebe preponderantemente projeções visuais do tálamo, o wulst visual, é muito mais desenvolvido nas corujas do que em outras aves. Dessa maneira, o wulst visual da coruja é um modelo interessante que permite uma comparação com o córtex visual primário (V1) de mamíferos, possibilitando trazer luz às questões ora mencionadas.

Assim como o córtex visual primário, o wulst visual da coruja apresenta propriedades surpreendentes, uma vez que essas emergem pela primeira vez em tais estruturas telencefálicas ao longo da via visual. Há uma transformação dos sinais provenientes das áreas talâmicas (NGL) e novas propriedades emergem em V1 e no wulst visual. Os neurônios do NGL apresentam campos

receptivos com um antagonismo centro-periferia, pouca seletividade à orientação (simetria) e uma forte atenuação nas altas frequências espaciais, atuando como filtros passa-baixa. Por sua vez, os neurônios de V1 e do wulst apresentam campos receptivos alongados com dois ou três sub-campos com polaridades alternadas, alta seletividade à orientação (quebra da simetria) e alta seletividade à frequência espacial, comportando-se como um filtro passa-faixa. Tais transformações são paradigmáticas e até hoje são alvo de diversos estudos dentro da área da neurovisão. Os mecanismos neurais envolvidos nesses processos de transformação vem sendo estudados ao longo dos anos e a comparação entre grupos filogenéticos diferentes mas que compartilham de homologia hodológica e funcional permite um maior entendimento com relação aos mesmos. Isso faz da coruja um bom modelo comparativo para estudo dos mecanismos neurais relacionados à percepção visual.

Portanto, o presente trabalho objetivou estudar a emergência de algumas das propriedades mencionadas, como a seletividade à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara. Um ponto fundamental desse estudo foi avaliar como essa seletividade se comporta em função do tempo, uma vez que a dinâmica temporal dessa seletividade pode sugerir quais os mecanismos neurais estão envolvidos na emergência dessas propriedades. Para isto, foi utilizada a técnica de correlação reversa, que é uma ferramenta adaptada para avaliar de forma mais precisa a dinâmica temporal da seletividade à orientação e frequência espacial.

## **1.2. A coruja suindara e seu sistema visual**

A coruja suindara, *Tyto alba*, é uma espécie de ave de hábitos noturno e crepuscular, sendo uma exímia caçadora de pequenos animais. Se uma coruja possui em média uma ninhada de sete filhotes e cada um deles necessita de 5 a 6 pequenos roedores por dia, ao final da noite, 35 presas precisam ser trazidas para o ninho. O tempo gasto em tal tarefa deve ser otimizado a fim de obter com sucesso o resultado final e conseqüente manutenção da prole (Harmening e Wagner, 2011). A coruja suindara possui inúmeras adaptações para desempenhar primorosamente tal tarefa. O característico disco facial (figura 1.3) bem como toda a circuitaria neural do sistema auditivo são

adaptações que permitem a excepcional habilidade auditiva utilizada para a localização das presas (Knudsen, 2002; Takahashi, 2010). Além disso, esse animal apresenta um voo silencioso devido ao *design* de suas penas e asas (Bachmann *et al.*, 2007). Outra característica marcante é a presença de grandes olhos dispostos frontalmente na face, um indicativo de que a visão é uma ferramenta importante durante a caça (figura 1.3).



**Figura 1.3.** Coruja suindara (*Tyto alba*). Essa espécie de coruja apresenta um disco facial constituído de penas responsáveis por conduzir o som aos ouvidos do animal, contribuindo para a excepcional habilidade auditiva do mesmo. Além disso, observa-se a presença de grandes olhos dispostos frontalmente, indicando a relevância do sistema visual nesse animal.

Lee Dice, em 1945, reproduziu em laboratório as condições de caça da coruja suindara. Ele observou que em ambientes com baixa luminosidade essa espécie é capaz de ver e capturar sua presa. Assim, é nítido que esse animal possui adaptações que permitem sua sobrevivência nesse tipo de ambiente.

Diante disso, diversos estudos tem sido conduzidos ao longo dos anos, e tem demonstrado que o processamento visual na coruja suindara é muito mais complexo do que se conjecturava. Ela é capaz, por exemplo, de perceber contornos ilusórios, uma habilidade complexa e essencial para a percepção da forma na ausência de uma imagem retinal (Nieder e Wagner, 1999).

Além disso, essa espécie de coruja é capaz de perceber profundidade e segregar figura do fundo em função da disparidade binocular, ou seja, a partir da diferença entre duas imagens bidimensionais, uma representação

tridimensional do ambiente é construída no cérebro da coruja. Tal habilidade nesse animal é gerada também por meio de paralaxe de movimento, onde o animal movimenta a cabeça de um lado ao outro a fim de extrair informações dos objetos em diferentes distâncias (van der Willigen *et al.*, 2002, 2003, 2011).

De forma igualmente interessante, as corujas suindaras em suas buscas e rastreamentos visuais utilizam tanto mecanismos de baixo para cima (*bottom-up*) quanto de cima para baixo (*top-down*). No primeiro, o processamento está relacionado ao estímulo em si mesmo e é conduzido na direção retina-córtex visual. Já o segundo mecanismo, leva em consideração o estímulo, mas também toda uma informação contextual como o conhecimento prévio acerca do estímulo bem como uma experiência passada do observador e uma mobilização do mesmo nos processos de busca visual, envolvendo assim outras áreas cerebrais. Diversos achados resultantes de estudos psicofísicos demonstraram que as corujas tendem a olhar mais para locais de contrastes diferentes e locais com bordas, porém, somente um processo de baixo para cima não é o suficiente para explicar tais resultados (Ohayon *et al.*, 2008). Assim, as propriedades da atenção visual tem sido investigadas e recentemente foi demonstrado que as corujas suindaras apresentam o fenômeno de saliência visual (*pop-out*), fenômeno este muito importante no comportamento de busca e rastreamento visual (Orlowski *et al.*, 2015).

Diante do exposto, quais são as características do sistema visual da coruja suindara e como o mesmo é organizado?

### **1.2.1. Olhos**

A coruja *Tyto alba* apresenta grandes olhos em formato tubular. A movimentação ocular é pequena, em torno de no máximo 2° (Steinbach and Money 1973, Pettigew e Konishi, 1976) e por isso a movimentação da cabeça compensa a pouca mobilidade dos olhos. A qualidade óptica dos olhos das corujas suindaras é digna de nota. Harmening *et al.*, 2007 demonstraram por meio de exames de aberrometria que a qualidade da imagem é excelente. Os raios aberrantes são o resultado de irregularidades da córnea e da lente (cristalino) e podem ser extremamente prejudiciais à imagem formada na retina. Os dados obtidos de aberrações de alta-ordem revelam que eles são três vezes menores na coruja quando comparados aos de humanos, por

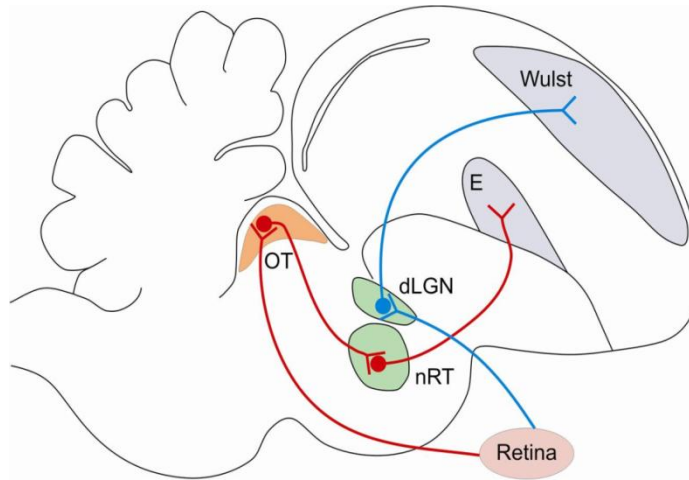
exemplo. Além disso, exames em corujas adultas revelaram que geralmente elas possuem olhos emétopes, ou seja, que não necessitam de correção (Harmening e Wagner, 2011).

O campo binocular desse animal é grande, em torno de 50° e a binocularidade é uma característica importante para a construção da percepção em três dimensões (estereopsia).

A retina é constituída por várias camadas celulares como nos demais vertebrados e como a coruja é um animal de hábitos noturnos, a proporção de bastonetes para cones é de 30:3. A coruja suindara não apresenta uma fóvea anatomicamente visível, mas possui uma faixa horizontal com densidade elevada de células ganglionares bem como uma área denominada *area centralis* em que a densidade é máxima, com valores de 11.000-12.500/mm<sup>2</sup> (Wathey and Pettigrew, 1989). A acuidade visual, ou seja, a habilidade de perceber detalhes espaciais finos de uma cena visual, está diretamente relacionada a densidade ganglionar. Comparativamente a outras aves de rapina e outros animais, observa-se que a densidade ganglionar é muito menor na coruja: 65.000/mm<sup>2</sup> no falcão (*Falco sparverius*) e 33.000/mm<sup>2</sup> no macaco (*M. mulatta*). Isso indica que a coruja suindara tem uma baixa acuidade visual. Os estudos psicofísicos corroboram tal característica e a coruja apresenta acuidade em torno de 2-4 ciclos/grau (o falcão, *Falco sparverius*, é de 54 ciclos/grau) (Harmening *et al.*, 2009).

### **1.2.2. Vias**

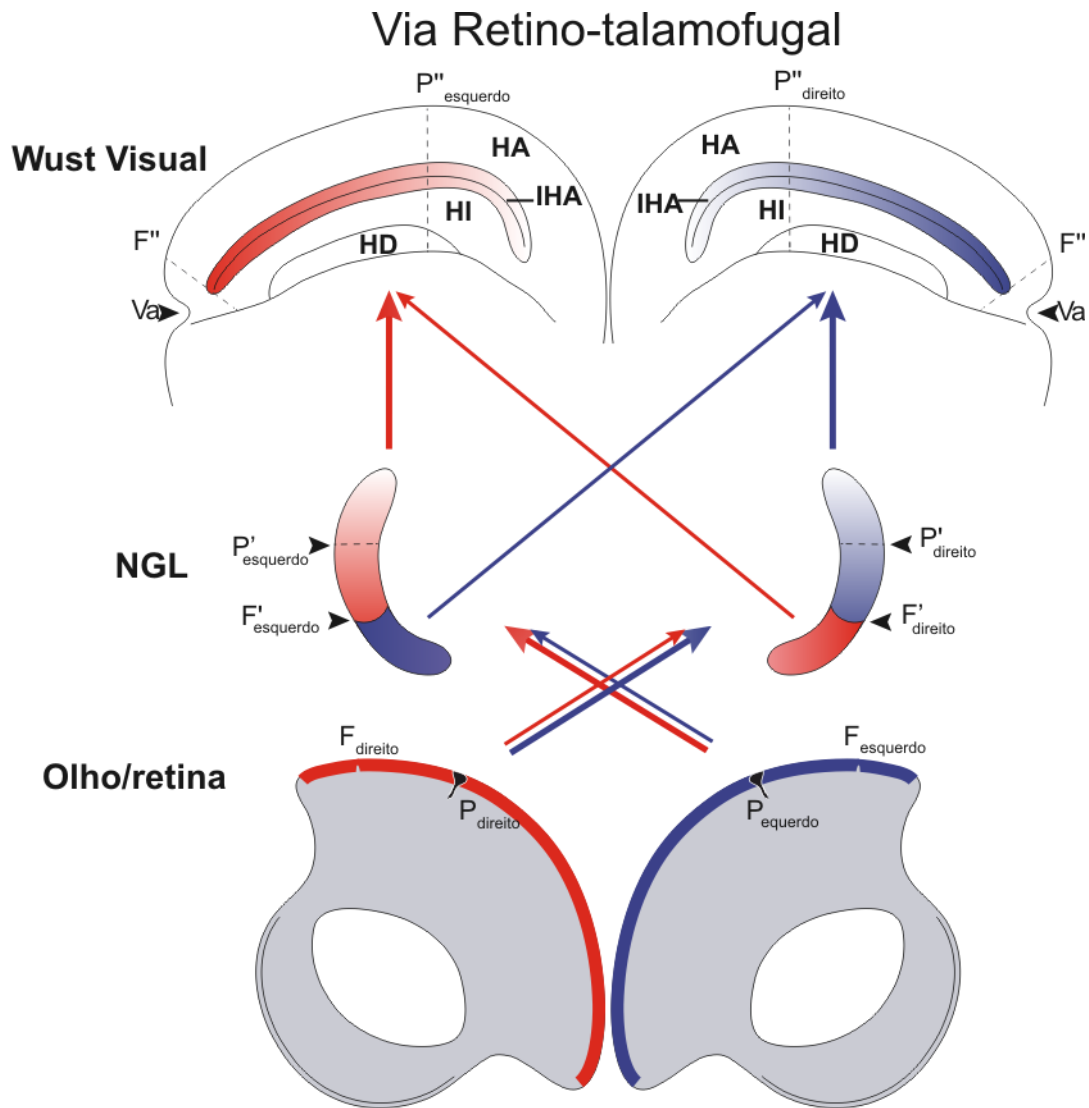
As aves possuem duas vias principais e paralelas para o processamento visual: a via talamofugal e a via tectofugal. Na maioria das aves, a via principal é a tectofugal, como por exemplo, nos pombos e na galinha. Nessa via, as fibras partem da retina, projetam-se para o teto óptico (o chamado colículo superior em mamíferos) e, daí, para o núcleo rotundus do tálamo, do qual neurônios de projeção integram-se à áreas telencefálicas, principalmente o *entopallium*. Dentro do grupo das aves, a coruja possui a talamofugal como via principal de processamento visual, semelhante à de mamíferos. Nessa via, as fibras partem da retina, passam pelo núcleo geniculado lateral (NGL) no tálamo e projetam-se para uma área telencefálica denominada wulst visual, figura 1.4 (Karten, 1973; Shimizu e Bowers, 1999, Wylie *et al.*, 2015).



**Figura 1.4.** Desenho esquemático das vias visuais da coruja. Em vermelho, representação da via tectofugal e em azul da via talamofugal. OT = tecto óptico, nRT= núcleo rotundus, E = entopallium, e dLGN = núcleo geniculado lateral. Modificado de Shimizu e Bowers, 1999.

De forma interessante, a convergência binocular não ocorre no NGL, como em mamíferos. Na coruja, essa convergência ocorre no wulst, como podemos observar no desenho esquemático abaixo (Pettigrew e Konishi, 1976). Há uma decussação óptica total e assim o NGL representa todo o campo visual do olho contralateral. As fibras talâmicas que representam a retina temporal cruzam somente no chiasma supraóptico, em direção ao wulst, resultando, portanto, na convergência binocular nessa área (figura 1.5).

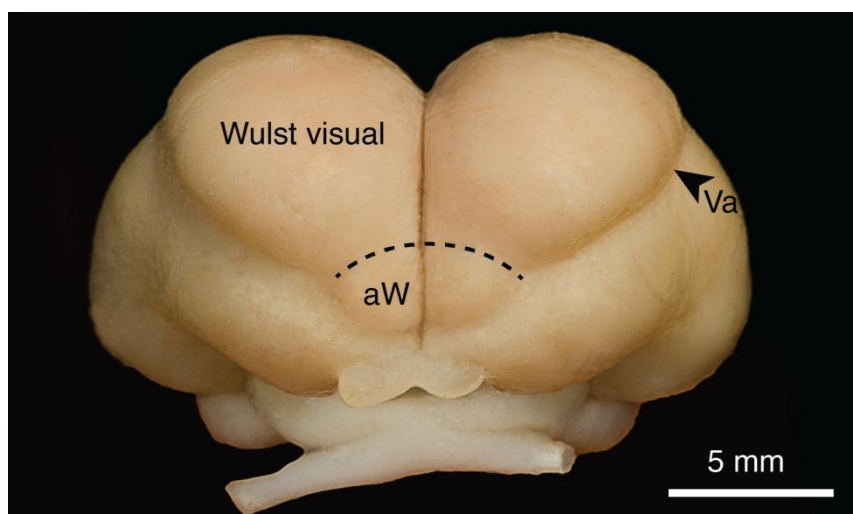




**Figura 1.5.** Desenho esquemático da organização e projeções da via talamofugal na coruja suindara. A convergência binocular ocorre no wulst visual. O núcleo geniculado representa todo o campo visual do olho contralateral e posteriormente as fibras que representam a retina temporal decussam para o wulst. F=fóvea, P= pecten.

### 1.2.3. Wulst

Como descrito na secção anterior, há uma maior diferenciação da via talamofugal nas corujas e, portanto, o wulst, área telencefálica que recebe preponderantemente projeções visuais do tálamo visual, mostra-se muito mais desenvolvido nas corujas, ocupando quase um quarto do volume do cérebro (Figura 1.6, Iwaniuk e Hurd, 2005b; Iwaniuk e Wylie, 2006; Iwaniuk *et al.*, 2008).



**Figura 1.6.** Foto com vista frontal de um cérebro de coruja suindara. O wulst ocupa quase um quarto do volume cérebro. Va= valécule, aW= Wulst somatosensorial. Créditos: Rosângela Neushwander

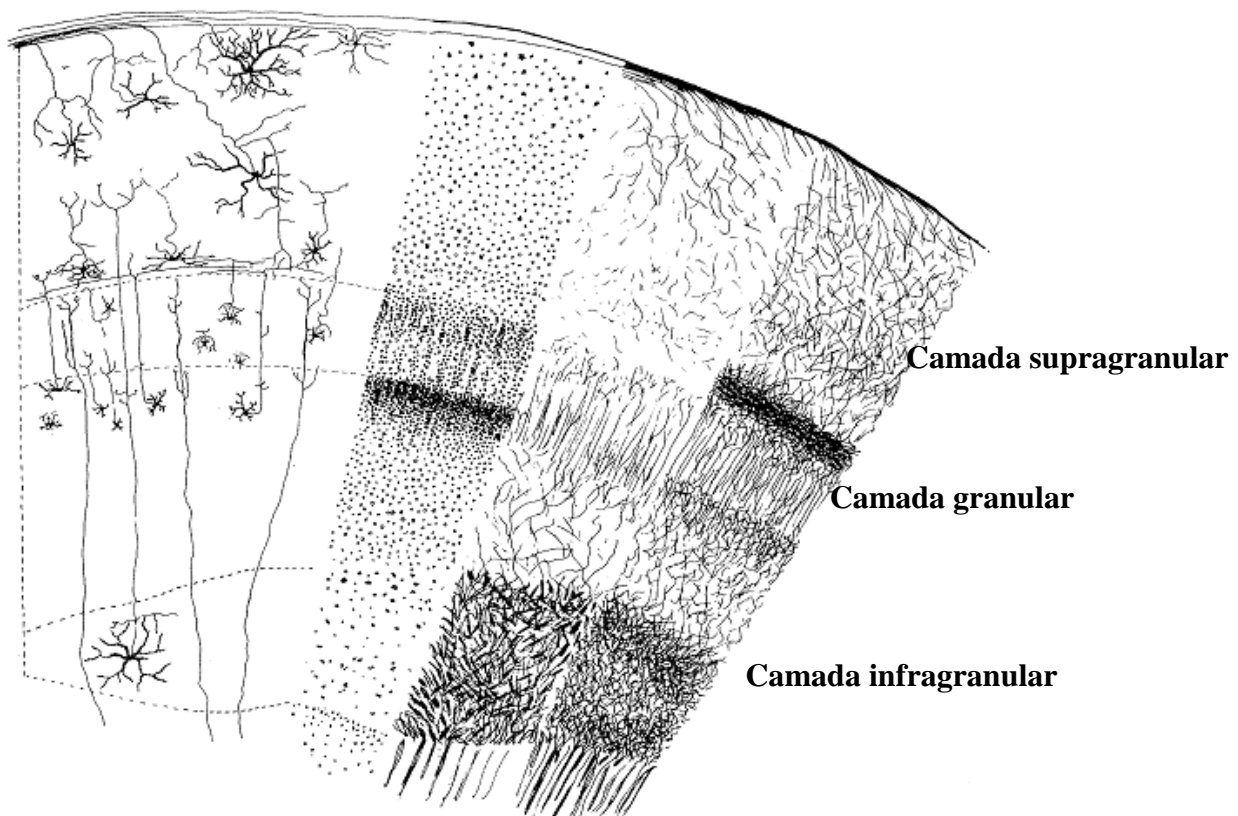
O wulst apresenta uma organização laminar (figura 1.7) e é dividido nas camadas supragranular, granular e infragranular. A camada supragranular é a *hyperstriatum accessorium* (HA), a granular é chamada de núcleo intercalado do *hyperstriatum accessorium* (IHA) e a infragranular é constituída pela *hyperstriatum calatus superior* (HIS) e pela *hyperstriatum dorsale* (HD). As camadas IHA e HD recebem projeções do núcleo geniculado lateral. HA recebe projeções da camada granular e envia projeções para múltiplas áreas extra-encefálicas, como o NGL e o teto óptico, e intra-encefálicas, como o *entopallium* (Karten, 1973; Shimizu e Bowers, 1999).

Do ponto de vista funcional, o wulst visual da coruja possui neurônios com pequenos campos receptivos organizados retinotopicamente e seletividade para disparidade binocular (Wagner e Frost, 1993, 1994; Nieder e Wagner, 2000, 2001a, b). Seus neurônios são seletivos também para direção do movimento e orientação do estímulo (Pettigrew e Konishi 1976; Pettigrew, 1979; Baron *et al.*, 2007).

A relevância da seletividade a orientação parece ser contundente no wulst da coruja suindara. Há no wulst uma organização padrão colunar relacionada à orientação (Pettigrew, 1979) e Liu e Pettigrew (2003), por imageamento óptico, comprovaram a existência de domínios de iso-orientação.

Além disso, essas células são seletivas para frequência espacial. Tais achados são interessantes porque as características de filtragem espacial no wulst podem ser preditoras da acuidade visual já descrita na literatura em trabalhos psicofísicos (Wagner e Frost, 1994, Pinto e Baron, 2009; Pinto e Baron, 2010)

Diante do exposto e em uma perspectiva mais ampla, isso faz da coruja um excelente modelo comparativo para o estudo dos mecanismos neuronais subjacentes à percepção visual. Em particular, o estudo do wulst pode ajudar a entender as regras gerais que governam a implementação de soluções neurais para o processamento visual. Dessa forma, este trabalho se propôs avaliar a seletividade à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara, proposta que além de seu valor intrínseco, permitirá estabelecer um maior entendimento acerca dos processos evolutivos que direcionam a construção de circuitos neuronais envolvidos na percepção visual.



**Figura 1.7.** Organização laminar do wulst visual. As diversas camadas – supragranular, granular e infragranular- podem ser visualizadas em diferentes técnicas de preparo. Reproduzido de Pettigrew, 1979.

# Capítulo 2

## Objetivos

---

---

## **2 - OBJETIVOS**

O presente projeto tem por objetivo avaliar a emergência da seletividade de algumas propriedades no wulst visual de corujas suindaras utilizando a técnica de correlação reversa. De forma mais específica:

- 1) Caracterizar a seletividade neuronal à orientação e sua dinâmica de surgimento;
- 2) Caracterizar a seletividade neuronal à frequência espacial e sua dinâmica de surgimento;
- 3) Determinar o grau de separabilidade interdimensional da seletividade à orientação durante seu período de surgimento.

# **Capítulo 3**

## **Materiais e Métodos**

---

---

### **3.1. Obtenção e cuidados com os animais**

Os animais utilizados no presente estudo foram mantidos em um aviário localizado nas dependências do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG. Eles receberam todos os cuidados no decorrer da pesquisa como alimentação adequada (roedores), controle do peso, controle de ectoparasitas e minimização do estresse durante os procedimentos experimentais. A manutenção e uso das corujas foram 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. Além disso, todos os cuidados e procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, UFMG (CETEA, licença 53/2011).

### **3.2. Familiarização dos animais com o ambiente experimental**

As corujas são inicialmente socializadas através de manuseio diário por um período médio de duas semanas. São utilizadas técnicas padrão de falcoaria, de acordo com as quais as corujas são carregadas e mantidas no laboratório, de modo a se acostumarem com a presença de pessoas e com os sons habituais do local e com a colocação da máscara de anestesia. Após esse período inicial, os animais foram submetidos à cirurgia de implante do cilindro de registro, a qual se seguiu um período de recuperação de pelo menos três dias.

### **3.3. Procedimentos cirúrgicos**

Uma câmara de registro de baixo peso foi implantada cirurgicamente sobre a área cranial de acesso à região de interesse (wulst). Essa mesma câmara foi utilizada para fixar a cabeça das aves durante os registros. Cada câmara constitui-se de uma peça metálica de formato cilíndrico, com diâmetro interno de 10 mm, altura de 8 mm, espessura de 1,5 mm e massa de 1 g. A anestesia foi realizada com Zoletil® 50 (uma mistura de 1:1 de tiletamina e zolazepam, Virbac, Carros, França), administrado por via intramuscular em uma dose de 20 mg/kg. Após a perda dos reflexos de retirada da pata, o animal foi envolvido por uma jaqueta de couro, e sua cabeça fixada em um

aparelho estereotáxico (Modelo 1430, David Kopf Instruments, Tujunga, Califórnia, EUA). O crânio foi exposto através de uma incisão na pele de em média 25 mm de comprimento, e a posição da craniotomia foi marcada sobre a superfície óssea de acordo com coordenadas estereotáxicas definidas em nosso laboratório. A câmara de registro foi centrada nesse ponto de referência e fixada ao crânio com resina odontológica (Vitro Fil®, DFL, Rio de Janeiro, Brasil), de modo a permitir que os eletrodos entrassem perpendicularmente à superfície cortical. Previamente à fixação, pequenos orifícios foram feitos no crânio para permitir uma melhor aderência da resina. Procedeu-se, então, a sutura da pele, seguida pela realização de uma craniotomia circular (diâmetro de aproximadamente 3mm), por dentro do cilindro implantado. As cirurgias tiveram duração média de 1 hora e foram realizadas sob condições assépticas. Após o tempo cirúrgico, foram administrados, intramuscularmente, um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil), um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen® 1%, Merial, São Paulo, Brasil) e sobre a dura-máter exposta um corticóide de uso tópico a fim de prevenir o surgimento de fibroses (Nepodex®, Latinofarma, São Paulo, Brasil).

A manutenção da limpeza da dura-máter foi sempre realizada após cada período de registro a fim de evitar o crescimento exacerbado de fibroses, com posterior aplicação do corticóide de uso tópico.

### **3.4. Registros eletrofisiológicos extracelulares**

#### **3.4.1. Considerações sobre a sedação**

Os registros eletrofisiológicos foram realizados com os animais em estado de sedação. Inicialmente foi administrada uma pequena dose de isoflurano para indução anestésica, por via inalatória. Uma máscara de silicone (Adsil®, Coltene, Brasil) foi criada uma vez que não foi encontrada nenhuma máscara de uso veterinário no mercado brasileiro em tamanho adequado às dimensões da face da coruja suindara. O isoflurano foi administrado por 30s, por meio de um vaporizador não-calibrado (instalado em aparelho de anestesia veterinário, Vetcare®, Brasmed, Brasil), período suficiente para que o animal já



tenha total perda dos reflexos, bem como diminuição da frequência cardio-respiratória, facilitando assim sua manipulação e contenção na câmara de registro. Posteriormente foi administrado uma mistura de óxido nitroso e oxigênio ( $\approx 4:5$ ) permitindo a manutenção do estado de leve sedação do animal, ao longo de todo o período de registro (em média 8 horas). Para manter abertos os olhos do animal foram utilizadas fitas adesivas, gentilmente posicionadas sobre as pálpebras do mesmo. Essa sedação leve permite que após a sessão de registro, o animal desperte rapidamente ( $\approx 50$  s), reestabelecendo suas funções vitais aos níveis normais.

Essa preparação não era utilizada ainda em nosso laboratório. E toda a parte de pesquisa dos agentes sedativos, escolha de equipamento apropriado para anestesia veterinária, construção de máscara para inalação em tamanho adequado para a coruja, adaptação da estrutura de contenção e fixação do animal foram realizadas durante o desenvolvimento desse estudo.

Tal preparação se fez necessária uma vez que os estudos anteriores de nosso laboratório eram realizados em corujas buraqueiras acordadas, uma espécie pequena e de fácil manuseio. Este estudo é o primeiro de nosso grupo em coruja suindara, sendo essa um animal de maior porte, mais arisco e arredo e que dificilmente tolera acordado muitas horas de registro e assim a nova preparação foi implementada. Ressalta-se que essa preparação vem sendo utilizada com sucesso por outros laboratórios, como o do Prof. Eric Knudsen da Universidade de Stanford (Stanford, EUA) e do Prof. Yoran Gutfreund da Universidade de Medicina Rappaport (Haifa, Israel), (Knudsen *et al.*, 1995; Winkowski e Knudsen, 2008; Zahar *et al.*, 2012).

#### **3.4.2. Dispositivo multieletrodos**

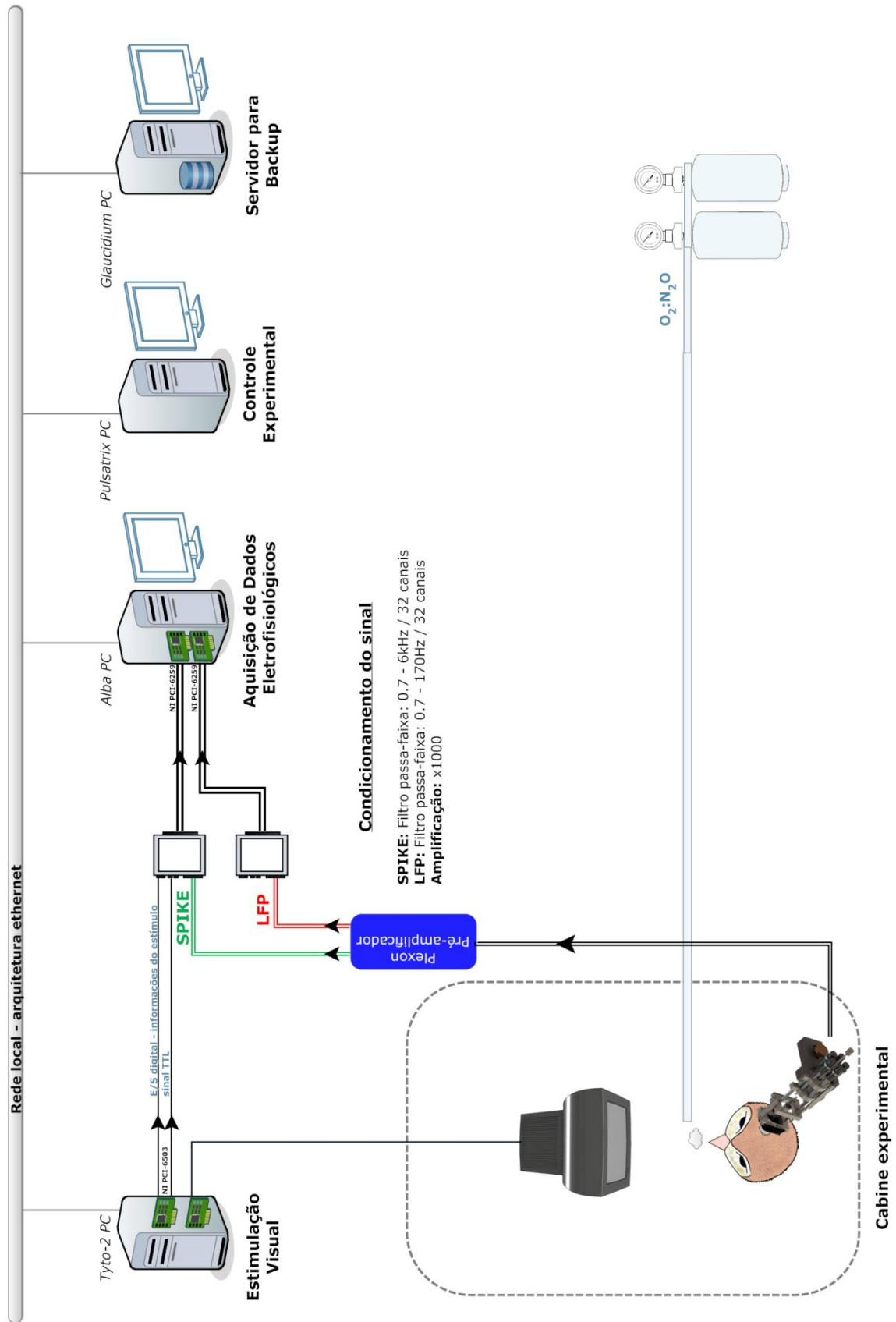
Os registros eletrofisiológicos extracelulares foram realizados por meio de um dispositivo de multieletrodos desenvolvido no Instituto Max-Planck e já utilizado com sucesso em corujas (Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009, Pinto e Baron, 2010). Os eletrodos ( $n = 1-3$ ; Thomas Recording, Alemanha; impedância: 0,3 – 0,7 M $\Omega$  a 1 KHz; diâmetro do corpo: 80  $\mu\text{m}$ ; diâmetro da ponta:  $\sim 2$   $\mu\text{m}$ ) foram montados dentro de microtubos guia equidistantes, acoplados a 3 micromanipuladores hidráulicos de precisão (Narishige, Japão). Esse dispositivo permite um posicionamento preciso e independente de

pequenos grupos de eletródios, o que flexibiliza o isolamento da atividade unitária. O dispositivo é preso ao cilindro de registro através de um adaptador metálico parafusado a ele e é mantido estável por um braço metálico, de modo a minimizar os movimentos relativos entre os eletrodos e a cabeça do animal proporcionando, assim, uma boa estabilidade de registro.

### **3.4.3. Registro dos sinais neuronais**

A figura 3.1 mostra o esquema geral do setup experimental utilizado durante os registros. As informações captadas pelos dispositivos internos da cabine experimental são enviadas a diferentes dispositivos de processamento. Primeiramente, o sinal proveniente dos eletrodos é amplificado (x10.000) e filtrado através de um condicionador de sinal (filtro passa-faixa 0,3kHz – 7kHz; headset HST/16o25, Caixa pré-amplificadora de 32 canais, Plexon®, Texas, USA). Do condicionador de sinal, o sinal neuronal condicionado vai 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. 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).

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 uma sessão de registro são armazenados em um quarto computador (Glaucidium PC) para análise



**Figura 3.1.** Visão geral do setup experimental. Todos os dispositivos utilizados para aquisição de dados são sincronizados via sinal TTL. A interconexão entre computadores é feito por meio de uma rede local.

posterior. A interconexão entre computadores é realizada por meio de uma rede local baseada em uma arquitetura ethernet.

Durante o registro, foram isolados potenciais de ação de neurônios individuais, tendo como base sua qualidade de isolamento e não somente a responsividade da célula. Foram gravados no computador apenas os disparos que excederam um limiar estabelecido manualmente no momento do registro, limiar esse que variou entre 3 e 4 desvios padrão do traçado do sinal. Uma vez obtido um bom isolamento de uma ou poucas unidades facilmente distinguíveis, deu-se início à caracterização dos campos receptores e à estimulação visual.

### **3.5. Estimulação visual**

Os estímulos visuais utilizados foram grades senoidais apresentadas 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 *frame* de 100 Hz. O monitor foi posicionado a 57 cm do olho da coruja. Ressalta-se que, a 57 cm, 1 cm de estímulo corresponde a aproximadamente 1° de ângulo visual e a parte utilizável da tela é de 27° x 36° de ângulo visual. As medidas de luminância do monitor para a correção gama foram realizadas com colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Inglaterra). Foi utilizada uma escala RGB de 8-bits com correção gama para produzir um comportamento linear da luminância apresentada no monitor. Para realizar essa correção, primeiro foi medido a luminância de vários tons da escala de cinza no monitor de apresentação de estímulos, utilizando o medidor de luminância ColorCal. Em seguida, as medidas foram plotadas e uma função de ajuste matemático foi calculada ( $y=x^{\text{gama}}$ ), estimando-se assim, o valor de gama (*Fit Toolbox* do Matlab, MathWorks, USA). Uma vez calculado o valor gama, gerou-se uma função inversa ( $y=x^{1/\text{gama}}$ ) 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. Todos os estímulos possuíam uma luminância média de 56 cd/m<sup>2</sup>, que se igualava àquela do fundo,

e foram apresentados na forma circular com 2 a 6 graus de diâmetro. Medidas fotométricas foram realizadas rotineiramente com o medidor de luminância ColorCal a fim de verificar a estabilidade da calibração do monitor. Por meio do pacote ActiveStim ([www.activestim.com](http://www.activestim.com)), os estímulos foram preparados como seqüências de imagens *bitmap*, por rotinas implementadas em Labview pelo Prof. Jerome Baron e apresentadas como filmes com grande precisão temporal na ordem de milisegundos.

### **3.5.1. Mapeamento dos campos receptores**

Após a descida dos eletrodos no wulst, o isolamento de células foi realizado avaliando as respostas neuronais por meio do monitoramento do som dos disparos de potenciais de ação provenientes de um auto-falante e pelo monitoramento de sua estabilidade (amplitude do sinal) no decorrer do tempo. O campo receptivo (CR) foi mapeado manualmente ou por estímulos controlados por computador utilizando-se o método de campo de resposta mínima (*minimum response field*, Barlow *et al.*, 1967), definido como a região do espaço visual onde tais estímulos evocam disparos neuronais em uma taxa que excede aquela da atividade espontânea da célula. Portanto, com estímulos como pontos e barras luminosas em várias direções foi possível determinar a localização e tamanho do CR.

A dominância ocular foi determinada. A maioria das células encontradas foi binocular, podendo ser estimulada por estímulos monoculares apresentados a qualquer um dos olhos. Depois dessa avaliação preliminar, as medidas dos campos receptores foram realizadas para o olho dominante, sendo que o olho não dominante ou sem resposta foi tampado, com o centro do campo receptor aproximadamente no centro da tela do monitor.

Os estímulos utilizados são grades senoidais definidas pelos seguintes parâmetros: orientação, direção do movimento, frequência espacial (FE), frequência temporal (FT), fase, contraste, luminância e tamanho. Inicialmente os estímulos foram apresentados no contraste máximo e as respostas foram avaliadas de forma qualitativa escutando a taxa de disparo da célula e/ou por uma análise quantitativa *off-line*, permitindo assim estimar a seletividade da célula para cada um dos parâmetros.

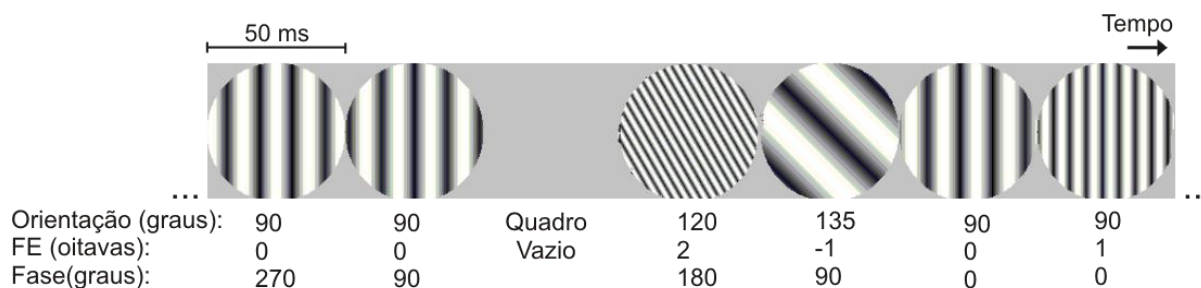
Assim, a caracterização quantitativa referente seletividade de orientação, direção do movimento, tamanho e frequência espacial foi feita com a técnica de estimulação em regime permanente (*steady-state*), com os estímulos em movimento ou estáticos. Para a caracterização da seletividade à direção do movimento os estímulos foram apresentados por 2s. Para o protocolo de seletividade a orientação e para o de frequência espacial foram apresentados por 1s.

### **3.5.2. Protocolo experimental**

Para caracterizar a dinâmica do surgimento da seletividade à orientação por meio da correlação reversa, foram apresentadas grades senoidais em estimulação dinâmica, com contraste máximo e tamanho adequado ao campo receptivo de cada célula, variando em orientação, frequência espacial e fase. Um ciclo da grade senoidal é a distância entre a barra branca e a barra preta adjacente. A orientação das grades consiste no ângulo (em graus ou radianos) das barras em relação a uma orientação padrão (por exemplo, vertical). A frequência espacial refere-se ao número de ciclos por ângulo visual, e assim grades de baixa frequência tem barras mais espessas e as de alta frequência apresentam barras mais finas. A fase corresponde à posição da grade em relação a um ponto de referência, assim, se na fase  $0^\circ$ , por exemplo, em uma grade uma barra branca estiver no centro do estímulo, na fase  $180^\circ$  será uma barra preta.

No presente estudo, a orientação consistiu em 12 condições ( $0^\circ$  a  $165^\circ$ ), variando em passos de  $15^\circ$ . A frequência espacial variou de -4 a 3 oitavas, em passos de 1 oitava. Inicialmente o número de frequências eram 5 (-2 a 2 oitavas) e posteriormente, nos últimos registros novas frequências foram adicionadas, totalizando a série de 8 frequências apresentadas. A fase, inicialmente, consistiu em 8 condições, com passos de  $45^\circ$  e depois em 4 condições com passos de  $90^\circ$ . Os estímulos variaram, portanto, nessas três dimensões de forma aleatória, e foram apresentados 20 quadros por segundo, ou seja, cada quadro durou 50 ms. (Figura 3.2). Dentro de uma sequência de estímulos foram adicionados também aleatoriamente 8 quadros sem a presença da grade para aquisição da atividade espontânea (quadro vazio). No total, cada sequência tinha em torno 392 quadros e cada sequência foi repetida

35 vezes. Dessa forma, o tempo total de estimulação utilizado nesse protocolo foi em torno de 11 minutos.



**Figura 3.2.** Exemplo de parte da sequência de grades senoidais utilizadas na estimulação. Esse protocolo foi utilizado para caracterizar a seletividade à orientação e FE bem como a separabilidade entre os dois atributos, sendo apresentado com 20 quadros/s. Cada sequência foi repetida 35 vezes.

### 3.6. Análises de dados

As análises de dados foram realizadas através de um conjunto integrado 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 de células individuais 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 inter-disparo; 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.**

Para os protocolos cuja resposta neuronal foi avaliada em regime permanente, dois critérios de exclusão foram adotados para garantir a confiabilidade das mesmas. O primeiro, por meio do teste Wilcoxon signed-rank, foi avaliado se a resposta máxima da célula era estatisticamente maior do que a atividade espontânea capaz de induzir uma resposta evocada estatisticamente confiável. O segundo, por meio 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. Apenas aquelas células que satisfizeram os dois critérios seguiram para as análises futuras.

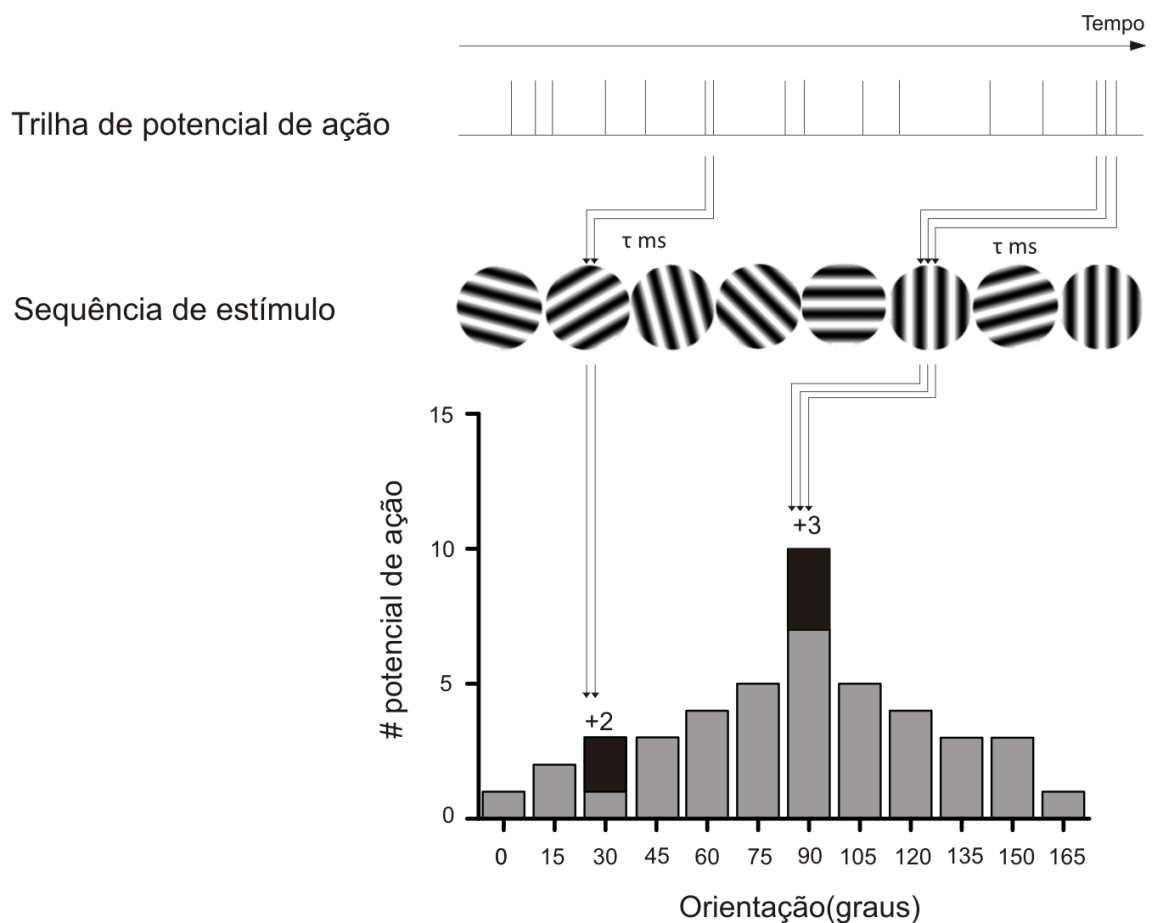
Para aqueles protocolos cujas respostas foram avaliadas por estimulação dinâmica, somente aquelas células em que foi obtida a latência inicial e, final conforme descrito abaixo, é que seguiram para as demais análises (item 3.6.4).

### **3.6.3. Correlação Reversa**

O método de correlação reversa foi adaptado para estudar a dinâmica do surgimento da seletividade neuronal à orientação (Ringach, 1997). Inicialmente, foi escolhido um tempo fixo de latência ( $\tau$  em ms). Para cada potencial de ação, constituinte do trem de potenciais, se faz um retrocesso no tempo ( $\tau$ ) a fim de se obter qual estímulo foi apresentado na sequência de



imagens nesse tempo ( $\tau$ ). Posteriormente, um contador correspondente a esse estímulo foi acrescido de 1. Após tal procedimento ser feito para todos os potenciais, um histograma de contadores e, portanto, com a distribuição de probabilidades de cada orientação ou frequência espacial ter sido apresentada naquele determinado tempo ( $\tau$ ) foi gerado, figura 3.3. Diversos tempos ( $\tau$ ) foram escolhidos para verificar o desenvolvimento dessas distribuições em função do tempo. Nesse estudo, o  $\tau$  variou de 0 até 180 ms, com resolução de 10ms.

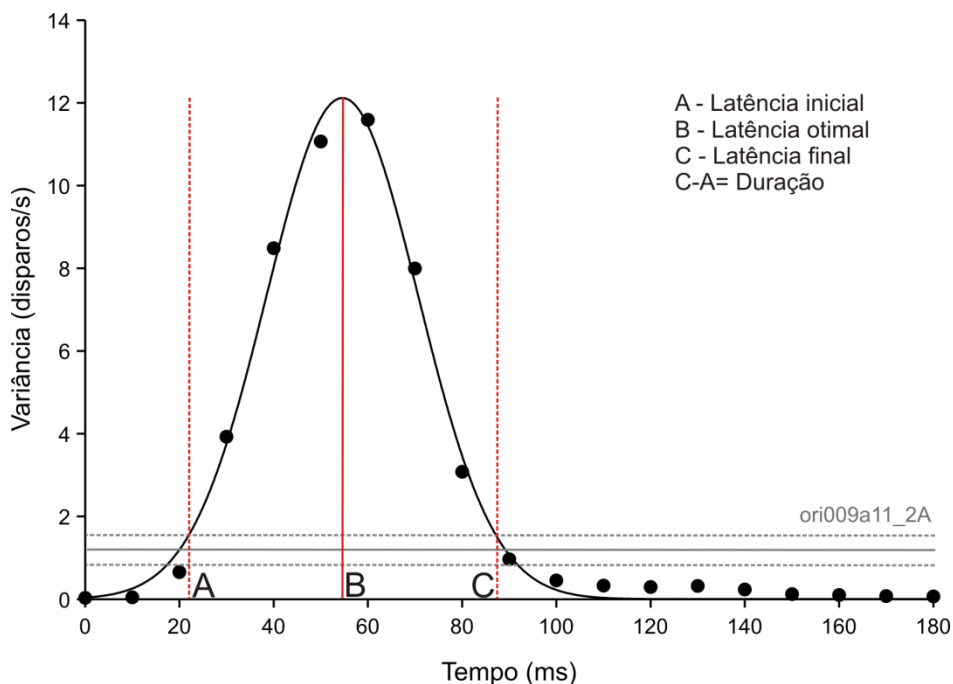


**Figura 3.3.** Ilustração do método da correlação reversa. O método de correlação reversa foi adaptado para estudar a dinâmica do surgimento da seletividade neuronal à orientação (Ringach *et al.*, 1997).  $\tau$  é o valor em ms para retroceder no tempo correlacionando o potencial de ação ao estímulo apresentado nesse determinado  $\tau$ . Posteriormente, um contador correspondente a esse estímulo será acrescido de 1, originando o histograma de contadores. Tal histograma será utilizado nas análises subsequentes.

### 3.6.4. Cálculo das latências

Como a resposta neuronal ao longo do tempo aumenta e diminui, a variância da resposta também apresenta mudanças. Nos tempos iniciais e finais os neurônios não respondem adequadamente, resultando em curvas de seletividade planas, e, portanto, há pouca variância na resposta. Quando a curva de seletividade se estabelece plenamente, a variância é máxima em um determinado tempo. Diante disso, foi calculada a variância da resposta para cada tempo, como exemplificado na figura abaixo, e essa curva foi ajustada por uma gaussiana. A latência inicial é aquele tempo em que o primeiro valor da variância da resposta é duas vezes maior do que o desvio padrão da atividade espontânea (média da resposta no tempo 0ms). A latência final foi calculada de igual forma, porém, se relaciona ao último valor de variância que atinge tal critério. Dessa maneira, a duração da curva de seletividade foi calculada como a latência final menos a inicial. E a latência ótima é o tempo em que a variância é máxima.

Assim para aqueles neurônios que não possuíram modulação da resposta não foi possível determinar as latências iniciais e os mesmos foram excluídos das análises posteriores



**Figura 3.4.** Cálculo das latências. A variância da resposta foi calculada em cada tempo e a latência inicial é aquele tempo em que o primeiro valor de variância é duas vezes maior que o desvio padrão (linha pontilhada) da atividade espontânea (linha cinza). A latência final segue o mesmo critério, porém relaciona o tempo ao último valor de variância. A latência ótima corresponde ao tempo onde a variância é máxima.

### 3.6.5. Análise da seletividade à orientação

As curvas de seletividade à orientação foram ajustadas com uma função von Mises (1), onde  $m$  é a média da atividade da célula,  $A_1$  é o valor máximo do pico,  $\varphi_1$  é o ângulo no qual o pico ocorre, e  $k_1$  é um fator de concentração, que se relaciona inversamente com a largura do pico (Swindale et al., 2003). Dessas curvas foram extraídas a orientação preferida e a largura de banda (LB).

$$M(\varphi) = m + A_1 e^{[k_1 (\cos(\varphi - \varphi_1) - 1)]} \quad (1)$$

Para o cálculo da largura de banda foi utilizado a equação abaixo onde  $k$  foi obtido das curvas ajustadas anteriormente:

$$LB = 0,5 \arccos \left[ \frac{(\ln 0,5 + k)}{k} \right] \quad (2)$$

A largura de banda é uma medida de seletividade local, que leva em consideração a parte central da resposta. Para aferirmos uma medida mais global, foi calculada a variância circular (VC) (Ringach et al, 2002), que considera a resposta em todas as orientações, Assim a variância é dada por  $VC = 1 - |R|$ , onde:

$$R = \frac{\sum_n r_n e^{i2\theta_n}}{\sum_n r_n} \quad (3)$$

A variável  $r_n$  é a resposta em  $n$  orientações. Valores de variância circular próximos a 1 significam baixa seletividade e próximos a 0 alta seletividade à orientação.

### 3.6.6. Análise da seletividade à frequência espacial

As curvas de seletividade à frequência espacial foram ajustadas com uma gaussiana modificada utilizada por Priebe *et al.*,(2006) onde  $A$  é a amplitude máxima da resposta,  $f_p$  é a frequência preferida da célula,  $\sigma_f$  é o desvio padrão da gaussiana e  $\zeta$  é um parâmetro de *skewness*.

$$R(f) = Ax \left\{ \exp \left[ \frac{-\left(\log_2(f) - \log_2(f_p)\right)^2}{2\left(\sigma_f + \zeta\left(\log_2(f) - \log_2(f_p)\right)\right)^2} \right] - \exp\left(\frac{-1}{\zeta^2}\right) \right\} \quad (4)$$

Dessas curvas foram extraídas a frequência espacial preferida e uma medida de seletividade local, a largura de banda (corte de alta frequência / corte de baixa frequência). O corte de alta frequência é o valor da frequência na região das altas frequências no qual a resposta corresponde a 50% do máximo. Já o corte de baixa frequência, foi calculado de igual forma, porém na região de baixas frequências espaciais.

Além disso, duas medidas de seletividade global foram calculadas: a supressão a baixas frequências espaciais (SBFE) e a supressão a altas frequências espaciais (SAFE). A SBFE é a resposta da menor frequência espacial apresentada dividida pela resposta da frequência espacial preferida. De maneira semelhante, a SAFE é a resposta da maior frequência espacial apresentada dividida pela resposta da frequência espacial preferida.

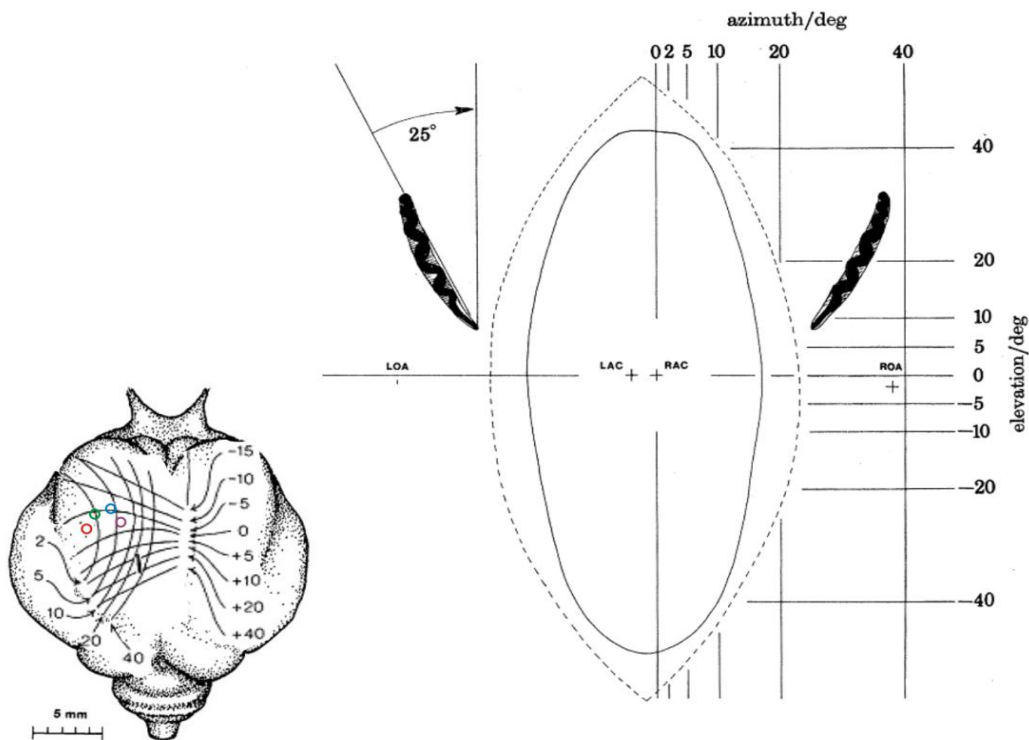
### 3.6.7. Estatística geral

A normalidade da distribuição dos dados foi analisada com a modificação de Lilliefors do teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando a normalidade foi verificada, as médias de duas populações foram comparadas com o teste t e de mais de duas populações com o teste ANOVA adequado. Por outro lado, para os dados que apresentaram distribuição não-paramétrica, foram utilizados os testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis, respectivamente equivalentes aos testes paramétricos citados. A relação entre grupos de dados foi avaliada com os testes de correlação de Pearson ou Spearman (não-paramétrico). O nível de significância considerado foi de 5%. As medidas dos

dados de distribuições populacionais foram apresentadas como mediana ou média aritmética  $\pm$  desvio padrão (DP).

### 3.6.8. Confirmação dos sítios de registro

Para quatro corujas foi feita uma confirmação, ainda que de forma indireta e aproximada dos locais de registro. Os cérebros desses animais, após a finalização de todos os registros e sacrifício dos animais, foram medidos em suas extensões, larguras e posicionamento do cilindro bem como do centro da craniotomia em relação à valécula e linha média. Posteriormente, foi feita uma relação dos valores obtidos com a representação do wulst apresentada por Pettigrew, 1979. Assim, na figura abaixo, vemos por meio dos círculos coloridos a provável localização dos nossos sítios de registro. Em acórdância com o descrito por Pettigrew, observamos uma organização retinotópica, de forma que o meridiano vertical é representado lateralmente, o campo lateral medialmente, o campo inferior anteriormente e o campo superior posteriormente no wulst. A região mais próxima da valécula apresenta células com campos receptivos menores e corresponde à *área centralis* da retina, região de maior acuidade visual.



**Figura 3.5.** Representação da organização topográfica do wulst. Organização topográfica obtida pela localização de quatro craniotomias de diferentes corujas (círculos coloridos). Registros eletrofisiológicos foram realizados nas áreas delimitadas pelos círculos. Nas corujas, o meridiano vertical é representado lateralmente, o campo lateral medialmente, o campo inferior anteriormente e o campo superior posteriormente no wulst. Adaptado de Pettigrew, 1979

# **Capítulo 4**

## **Seletividade à orientação**

---

---

## 4.1. Introdução

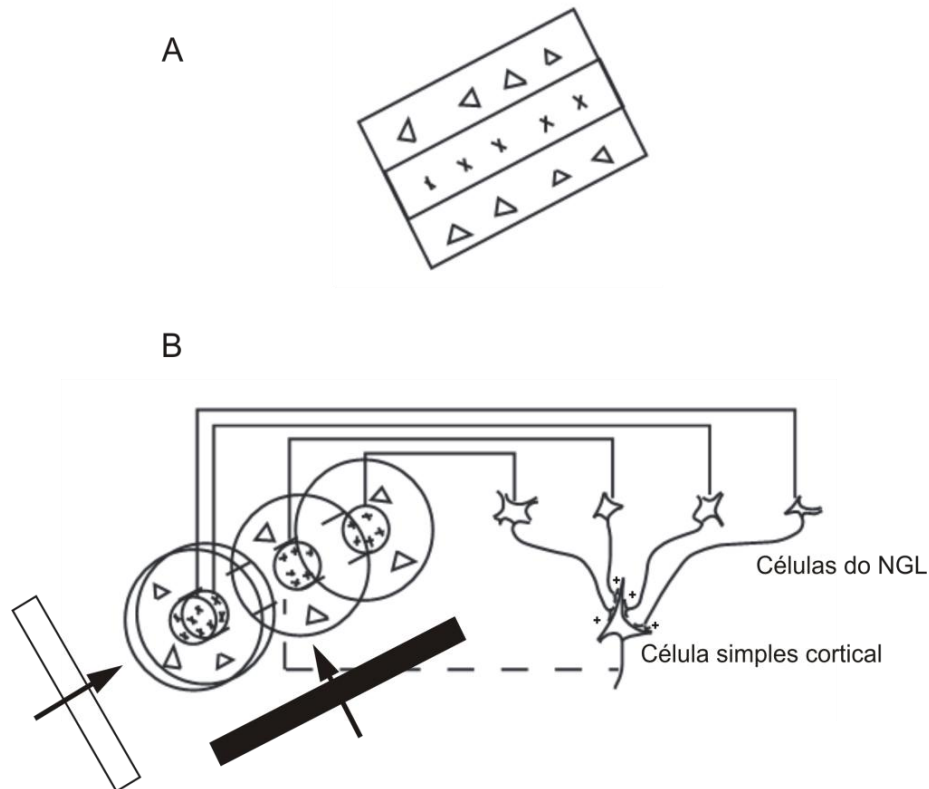
Os estudos relacionados à orientação do estímulo tem uma longa história dentro da neurociência da visão, seja nas áreas do comportamento e psicofísica, seja na área da neurofisiologia. Os achados de Hubel e Wiesel na década de 60 do século passado fomentaram as pesquisas relacionadas a esse tema. Eles descreveram a seletividade para orientação de contornos no córtex visual primário (V1) de gatos e primatas (Hubel e Wiesel, 1962, 1968) e desde então, essa propriedade distintiva das células corticais tem gerado estudos em diversos outros mamíferos como furões (Alitto e Usrey 2004), esquilos (Jacobs *et al.*, 1982; Heimel, 2005), camundongos (Prusky e Douglas 2004). Tal propriedade também foi descrita no wulst visual de corujas (Pettigrew e Konishi, 1976, Pettigrew, 1979, Baron *et al.*, 2007).

Hubel e Wiesel foram os primeiros a descrever tal propriedade em um modelo simples e elegante, conhecido hoje como o modelo clássico. De forma sucinta, segundo esse modelo, a seletividade emerge por meio da somação linear, nas células corticais chamadas de simples, das eferências do núcleo geniculado lateral (NGL), cujos campos receptivos (CR) do tipo centro-periferia com características antagonistas são parcialmente sobrepostos ao longo de um eixo específico. Há, portanto, no CR de células de V1, a formação de regiões alongadas e orientadas em torno desse mesmo eixo (figura 4.1). As células simples, por sua vez, seriam o primeiro estágio do processamento visual em V1, enviando, posteriormente, projeções excitatórias para células complexas. Estas são também seletivas à orientação, no entanto, não possuem as sub-regiões excitatórias e inibitórias bem definidas e organizadas em seus CRs. Assim, o modelo assume uma estrutura de projeção hierárquica convergente, de forma que a maioria das células do córtex visual primário é seletiva à orientação.

Diversos trabalhos anatômicos das regiões do NGL e do córtex visual fornecem suporte para o modelo clássico. As células simples são encontradas predominantemente nas camadas IV e VI, nas quais são projetadas as terminações dos axônios do NGL (Hubel e Wiesel, 1962; Bullier e Henry, 1979; Martinez *et al.*, 2005). Além disso, registros simultâneos no NGL e no córtex



apontam para uma conexão direta entre as células dessas duas regiões (Ferster e Lindstrom, 1983; Tanaka, 1983; Reid and Alonso, 1995).



**Figura 4.1.** Ilustração do modelo de Hubel e Wiesel. A) Campo receptivo da célula simples. Sub-região excitatória é representada por x e sub-regiões inibitórias são representadas pelos triângulos. B) As células simples recebem aferências excitatórias das células talâmicas que possuem campos receptivos concêntricos alinhados paralelamente à orientação preferida (barra preta). Um estímulo na orientação preferida ativa várias células talâmicas simultaneamente, enquanto um estímulo na orientação anti-preferida (barra branca), ativa apenas uma célula de cada vez. Adaptado de Hubel e Wiesel (1962).

Outro ponto-chave do modelo, a organização espacial das aferências provenientes do NGL, também é evidenciado em alguns estudos. A sobreposição dos CRs das células talâmicas, orientados paralelamente com sub-regiões de mesma polaridade (ON ou OFF) dos CRs das células corticais, é encontrado em trabalhos com gatos (Tanaka, 1983; Reid e Alonso 1995; Jin *et al.*, 2008) e furões (Chapman *et al.*, 1991).

A importância da atividade aferente vinda do NGL na geração da seletividade à orientação é evidenciada em estudos como Ferster *et al.* (1996) e Chung e Ferster (1998). Nesses estudos, as células simples, que recebem aferentes talâmicos e de outras células corticais, foram registradas após a inativação do córtex por meio de resfriamento ou estimulação elétrica, respectivamente. Em ambos os experimentos, demonstrou-se que não há mudanças significativas nos parâmetros da curva de seletividade à orientação – o pico da orientação preferida e a largura da banda (LB) – após a abolição dos *inputs* intracorticais.

Após alguns anos e devido a algumas aparentes incongruências do modelo clássico, como por exemplo, o fato de células corticais apresentarem a invariância ao contraste (Sclar e Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987) e a variação da dinâmica temporal da curva de seletividade à orientação (Ringach *et al.*, 1997, 2003), outros modelos surgiram para tentar responder a essas questões.

Surge, portanto, a hipótese da atuação da inibição intracortical no processo de emergência da seletividade. Essa inibição, segundo os diversos modelos, poderia ser causada por neurônios seletivos a orientações diferentes da célula que está recebendo o aferente excitatório talâmico, ou poderia ser por aqueles seletivos às mesmas orientações ou insensíveis à orientação (Worgotten e Koch, 1991; Ben-Yishai *et al.*, 1995; Douglas *et al.*, 1995; Somers *et al.*, 1995; Sompolinsky e Shapley, 1997; Troyer *et al.*, 1998; McLaughlin *et al.*, 2000; Lauritzen e Miller, 2003).

Apesar dos diversos trabalhos demonstrarem a importância da inibição e um possível papel da mesma nos mecanismos de seletividade das células corticais, o assunto ainda se encontra em aberto. Isto porque, estudos em que ocorre a inativação da inibição por diversos métodos (aplicação intravenosa ou tópica de bicuculine, aplicação de picrotoxina, resfriamento e estimulação elétrica), têm apresentado resultados controversos. Pettigrew e Daniel (1973), Rose e Blackmore (1974), Sillito (1975), Sato *et al.* (1996), descreveram alterações na seletividade dos neurônios corticais, entretanto, Nelson *et al.* (1994), Ferster *et al.* (1996), Chung e Ferster (1998), demonstraram que a atividade remanescente, de origem excitatória e talâmica, é suficiente para produzir uma seletividade similar ao do córtex intacto.

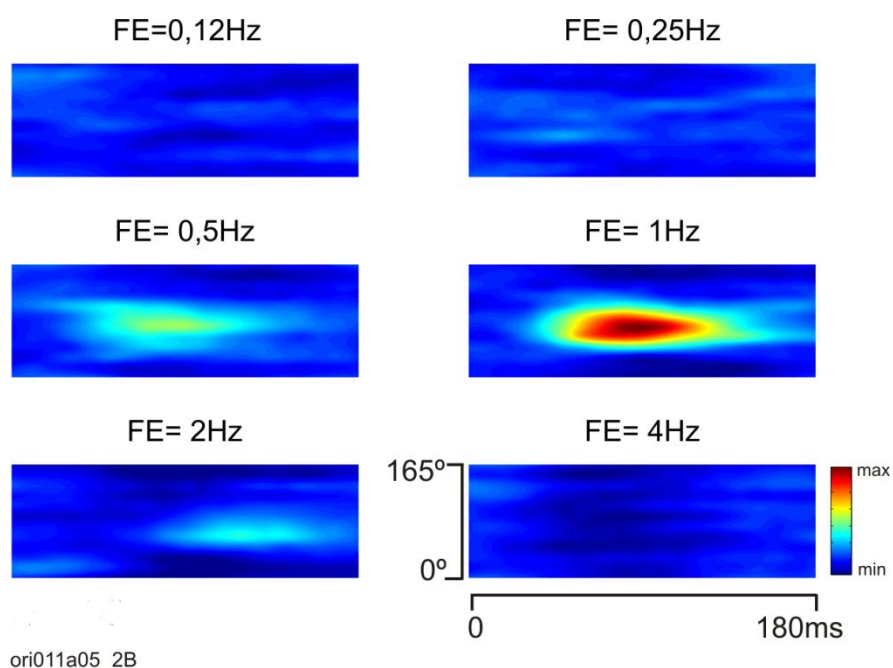
Dentro desse contexto, o estudo da dinâmica temporal da seletividade à orientação é uma abordagem que vindo sendo utilizada ao longo dos anos para tentar elucidar essa emergência. Se a seletividade é gerada estritamente por processos talâmicos, como proposto pelo modelo clássico, a mesma deveria se manter constante ao longo do tempo. Por outro lado, se mecanismos intracorticais inibitórios atuam de alguma maneira, as células deveriam, então, ser inicialmente pouco seletivas e ao longo do tempo, se tornariam mais seletivas. Em 1997, Ringach e colaboradores usaram o método de correlação reversa para estudar a dinâmica temporal da seletividade à orientação, e desde então, novos estudos tem sido realizados com essa abordagem e tem lançado luz no tema em questão. O presente capítulo tem por objetivo utilizar tal método para caracterizar a seletividade a orientação e sua dinâmica temporal no wulst visual da coruja suindara.

A seletividade na coruja suindara foi descrita inicialmente na década de 70 do século passado (Pettigrew e Konishi, 1976; Pettigrew, 1979) por meio de registros extracelulares. Esses estudos clássicos demonstraram que, apesar do wulst não ter uma estrutura telencefálica semelhante aos mamíferos, seus neurônios são seletivos para a orientação do estímulo. Décadas mais tarde, Nieder e Wagner (1999), também realizaram registros eletrofisiológicos, mas não apresentaram dados descritivos e detalhados da seletividade à orientação, apesar de os mesmos terem sido essenciais para a demonstração dos correlatos neuronais relacionados à percepção de contornos ilusórios. Desde então, não há outros estudos descritos na literatura que investiguem tal questão, exceto um trabalho do nosso grupo, em corujas-buraqueiras (Baron *et al.*, 2007), mas que não se atém a dinâmica temporal da emergência a seletividade à orientação.

## 4.2. Resultados

### 4.2.1. Dinâmica temporal e caracterização da seletividade à orientação

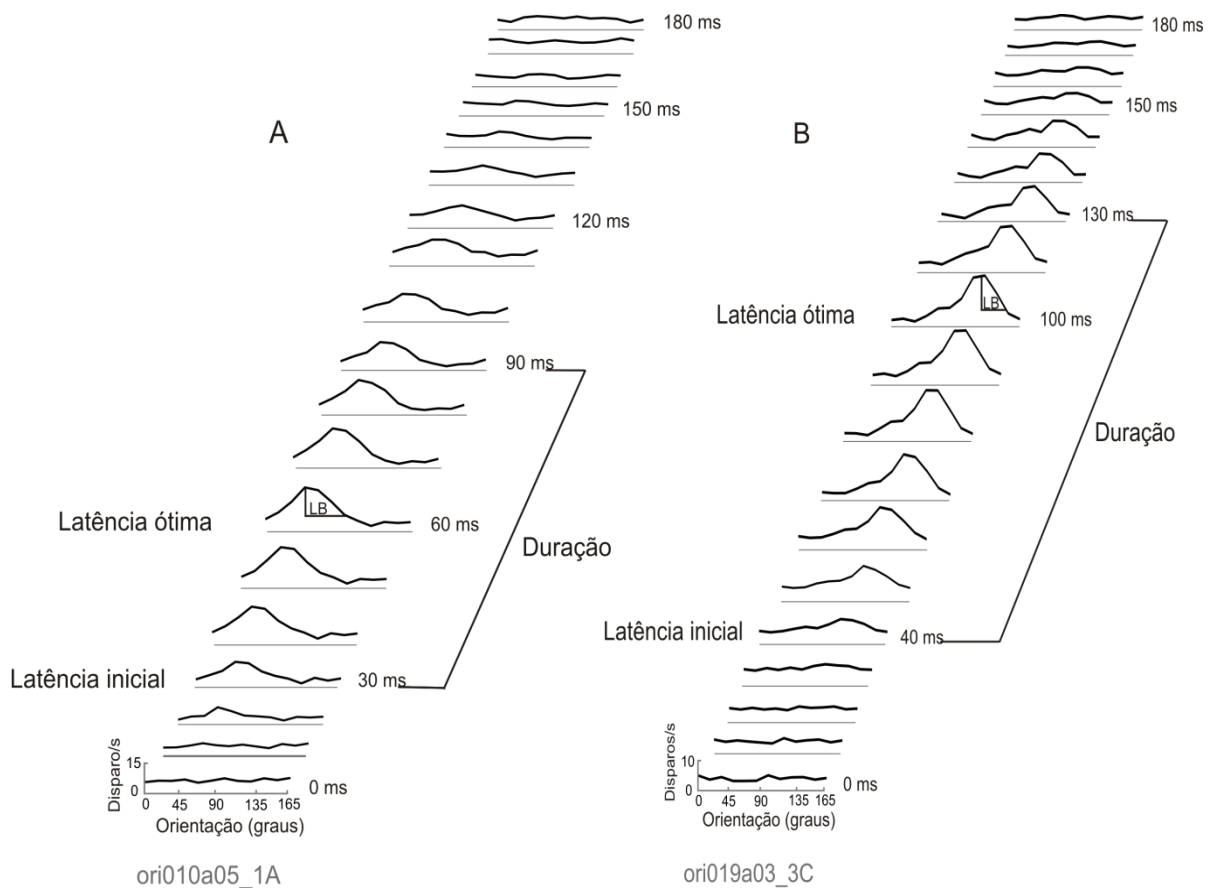
Foram registrados 63 neurônios do wulst visual em cinco corujas *Tyto alba*. Segundo os critérios de exclusão apresentados na secção 3.6.2 de Materiais e Métodos, 34 neurônios foram desconsiderados das análises seguintes e os 29 restantes passaram pelas próximas análises. A figura 4.2 ilustra a resposta de uma célula representativa da amostra que foi utilizada para as análises futuras. A análise referente a toda caracterização da seletividade à orientação bem como sua emergência foi feita na frequência espacial que evocou maior resposta (FE preferida) da célula. No exemplo em questão, observamos que a resposta a orientação em função do tempo é encontrada na frequência espacial de 1Hz.



**Figura 4.2.** Resposta neuronal à orientação ao longo do tempo. Célula representativa da amostra onde a resposta à orientação ao longo do tempo é mais intensa na frequência de 1 ciclo/grau. Todas as demais análises referentes à seletividade a orientação foram realizadas na frequência espacial preferida da célula.

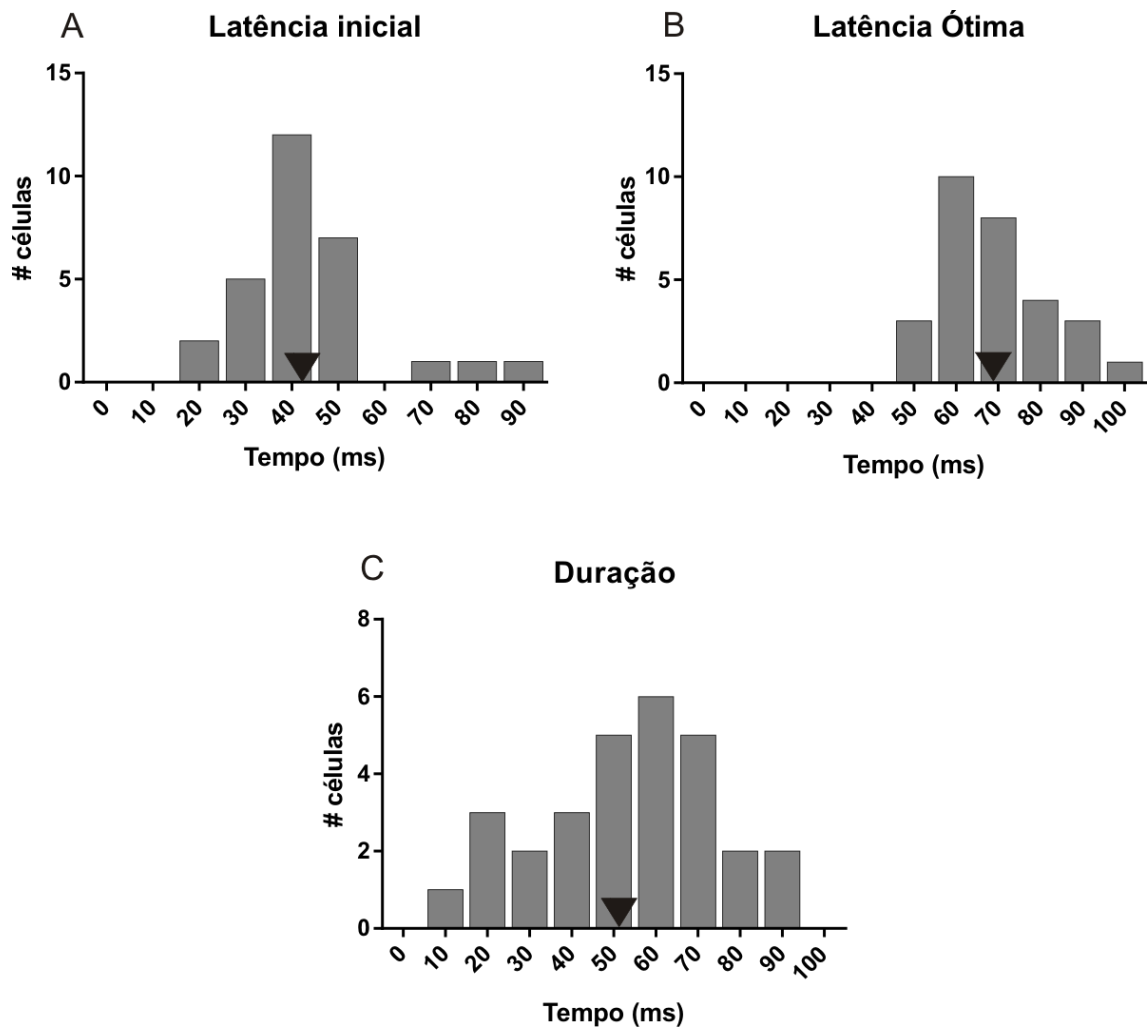
A análise da dinâmica temporal se deu inicialmente com a caracterização da latência inicial, latência ótima e duração da seletividade (Secção Materiais e Métodos, item 3.6.4). Assim, observa-se que após um determinado tempo há o início da resposta, com gradual aumento, atingindo

um pico e posteriormente ocorre o declínio da mesma. O início (latência inicial) e a duração da seletividade bem como o tempo onde a resposta é máxima (latência ótima) variam de célula para célula (figura 4.3). A célula em A, por exemplo, atinge sua resposta máxima em 60 ms e tem por duração 60 ms. Já a célula em B atinge o pico da resposta em 100 ms e a duração é de 90 ms.



**Figura 4.3.** Dinâmica temporal da seletividade à orientação. As latências iniciais, as latências ótimas bem com as durações da seletividade variam de célula para célula. A atividade aumenta progressivamente, atingindo uma resposta máxima e depois decresce nas latências finais. LB= largura de banda, medida local de seletividade a orientação.

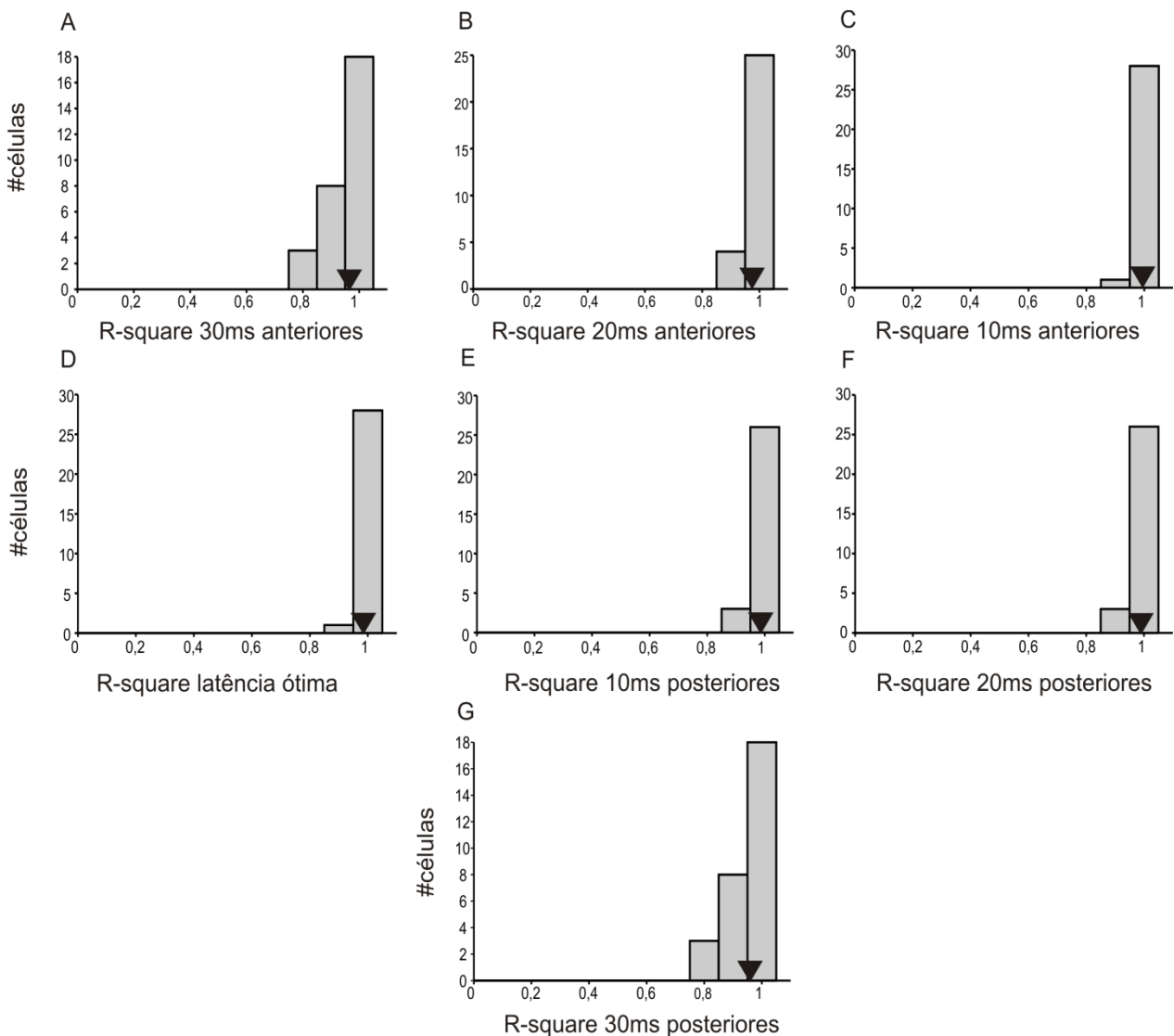
Populacionalmente, a média da latência inicial é de 43,17ms ( $\pm 14,39$  DP), a média da duração é 52,78 ms ( $\pm 21,69$  DP) e da latência ótima 69,56 ms ( $\pm 11,67$  DP), como demonstrado na figura 4.4.



**Figura 4.4.** Dinâmica temporal da seletividade à orientação, dados populacionais. A) latência inicial, com média de 43,17ms B) latência ótima, com média de 69,56 ms e C) Duração da seletividade, com média de 52,78 ms. As setas pretas indicam os valores médios. n=29.

Em sequência, as curvas de seletividade foram ajustadas com uma Von mise (Materiais e Métodos, secção 3.6.5). Esses ajustes foram realizados para todos os períodos de latência. Porém, como esperado, nas latências iniciais (aproximadamente de 0 a 30ms em média) e nas finais (130ms a 180ms, em média) as curvas de ajuste de seletividade são bastante planas e não passaram nos critérios estatísticos. Assim, as análises posteriores foram realizadas para as seguintes latências: latência ótima, 10, 20 e 30 ms a menos que a ótima e 10, 20 e 30 ms após a ótima, totalizando, portanto, 7 curvas de ajustes. Os ajustes das curvas foram avaliados por meio do Teste-F ( $p < 0,05$ ), a fim de verificar a confiabilidade estatística dos valores de coeficientes de

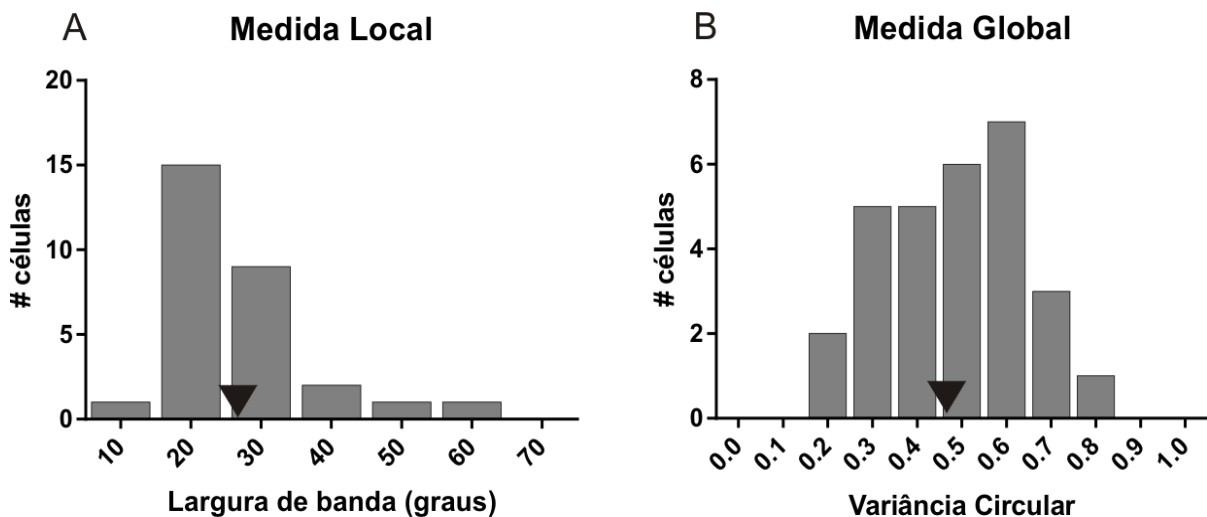
determinação ( $R^2$ ) obtidos. O coeficiente de determinação indica a variância na resposta em cada condição apresentada e valores próximos a 1 demonstram que o modelo escolhido é capaz de realizar uma boa estimativa dos dados. A figura 4.5 apresenta os valores de  $R^2$  para as curvas obtidas de cada célula nas 7 latências. Todas as células passaram pelo teste F, nas referidas latências. Os valores de média encontrados para cada distribuição são: 0,94, 0,97, 0,98, 0,97, 0,97, 0,96, 0,94 para as latências de 30, 20, 10 ms anteriores a ótima, latência ótima e 30,20 e 10ms posteriores, respectivamente, e assim observamos que os ajustes feitos forneceram uma boa descrição dos dados. Importante frisar que nesse trabalho, as latências dos 10 ms anteriores e dos 10ms posteriores à latência ótima, também são referenciados como latência de desenvolvimento e latência de decaimento, respectivamente.



**Figura 4.5.** Distribuição dos valores de R-square. A a G distribuição do R-square nas sete latências: 30, 20, 10ms anteriores a ótima, ótima, 30, 20 e 10 ms posteriores a ótima. Valores próximos a 1 significam que houve um bom ajuste dos dados. As setas pretas indicam os valores da média. n=29.

Duas medidas de seletividade à orientação foram calculadas: a largura de banda da curva de seletividade (medida local) e a variância circular (medida global). Relembramos que a largura de banda (LB) leva em consideração apenas o pico da resposta. Já a variância circular (VC) considera as respostas em todas as orientações apresentadas e varia entre 0 e 1. Valores próximos a 0 indicam células muito seletivas e aqueles próximos a 1 indicam células pouco seletivas à orientação.

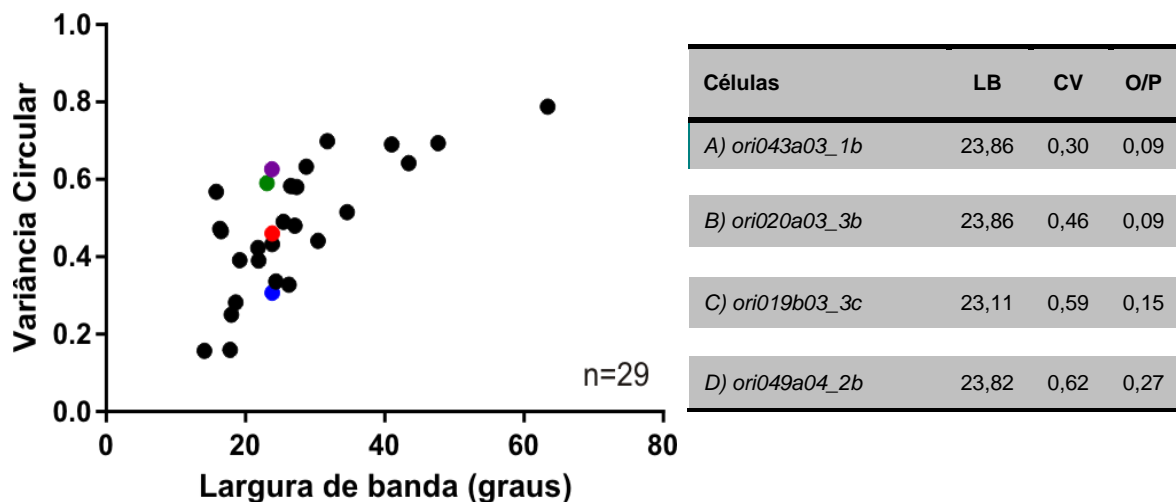
Na figura 4.6 são apresentadas as distribuições dessas duas medidas na latência ótima, onde, portanto, a resposta é máxima. No wulst visual de *Tyto alba*, há uma heterogeneidade com relação a essas medidas, com células altamente seletivas apresentando valores de LB e VC menores, bem como aquelas não tão seletivas com curvas mais largas e com VC maior. A média dos valores de LB e VC na latência ótima foram 26,78° e 0,47 respectivamente.



**Figura 4.6.** Medidas de seletividade à orientação. A) Largura de banda. É uma medida local, uma vez que considera os valores de orientação próximos ao pico da resposta. Foi calculada como metade da largura na metade da altura da curva. B) Variância Circular. É uma medida global. Valores próximos a 1 indicam baixa seletividade e os próximos a zero, alta seletividade à orientação. As setas pretas indicam os valores médios. n=29.



As duas medidas estão correlacionadas positivamente como observamos na figura abaixo,  $\rho = 0,66$  com  $p < 0,0001$ . De um modo geral, células com baixos valores de variância circular apresentam menores valores de largura de banda. No entanto, observa-se que algumas células que possuem mesma largura de banda, não necessariamente possuem a mesma variância circular, como aquelas assinaladas na figura abaixo. Provavelmente, os mecanismos relacionados à emergência do pico da resposta sejam diferentes daqueles que direcionam a resposta a orientações nas bordas da curva. Na próxima seção avaliamos, ainda que de forma indireta, quais mecanismos poderiam estar direcionando essa modelagem das curvas de seletividade.



**Figura 4.7.** Relação entre medidas de seletividade à orientação. Há uma correlação positiva e significativa entre a largura de banda e a variância circular. As medidas de seletividade das células em destaque estão apresentadas na tabela ao lado do gráfico. Algumas células possuem mesma largura de banda, porém variância circular e O/P diferentes. Células A, B, C e D correspondem respectivamente às cores: azul, vermelho, verde e lilás.  $n=29$ .

#### 4.2.2. Mecanismos

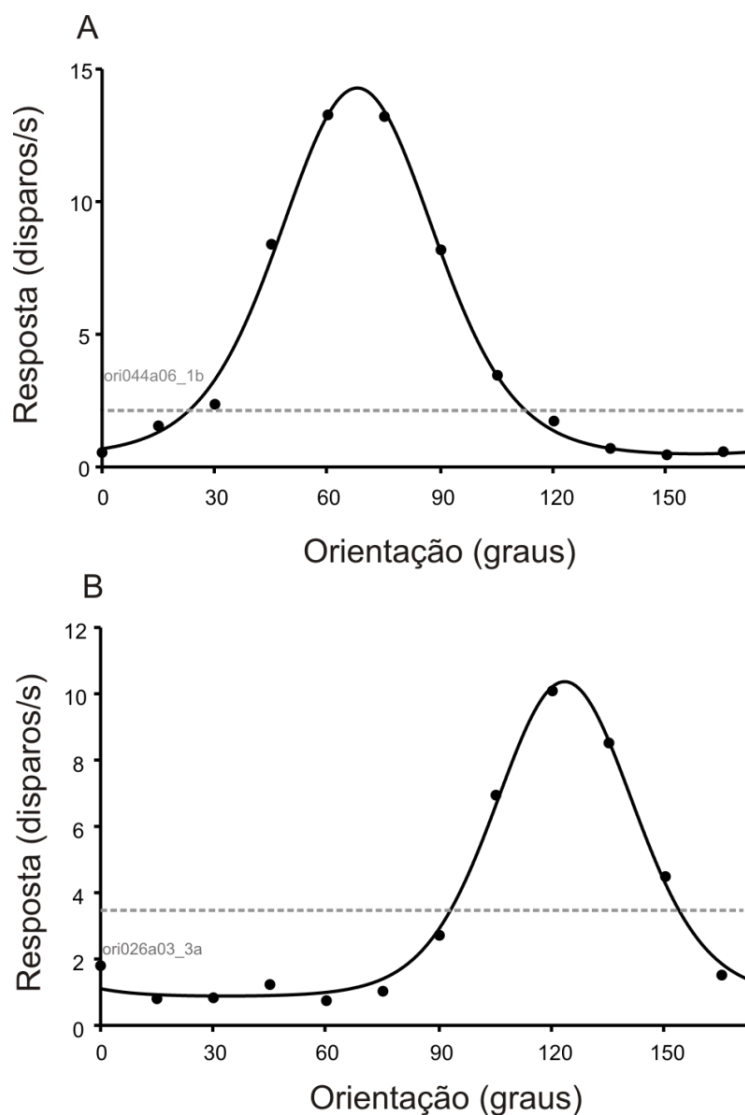
Como já outrora mencionado, a variância circular leva em consideração as demais orientações, e não apenas o pico da resposta. Portanto, intuitivamente, a resposta fora do pico, ou seja, na borda da curva, foi analisada. Gegenfurtner et al., (1996) e Ringach et al., (2002b) reportam uma outra

medida de seletividade que leva em conta a resposta da orientação ortogonal (90° da orientação preferida) em comparação com resposta da orientação preferida. No presente estudo, foi calculada para todas as latências a taxa O/P, onde a resposta da orientação ortogonal foi dividida pela resposta da orientação preferida. Quanto menor o valor dessa taxa, significa que a célula é mais seletiva à orientação.

Em sequência, a variância circular foi correlacionada com a O/P. Na figura 4.9 observa-se a forte correlação entre ambas medidas na latência ótima ( $\rho = 0,91$ ,  $p < 0,0001$ , Pearson). Ao compararmos os valores obtidos das três medidas de seletividade de algumas células (vide tabela na figura 4.7), nota-se que apesar das mesmas possuírem a LB muito próximas, suas VC diferem consideravelmente assim como a O/P. As células que apresentam uma VC menor possuem também uma O/P menor, resultante de uma atenuação da resposta na orientação ortogonal.

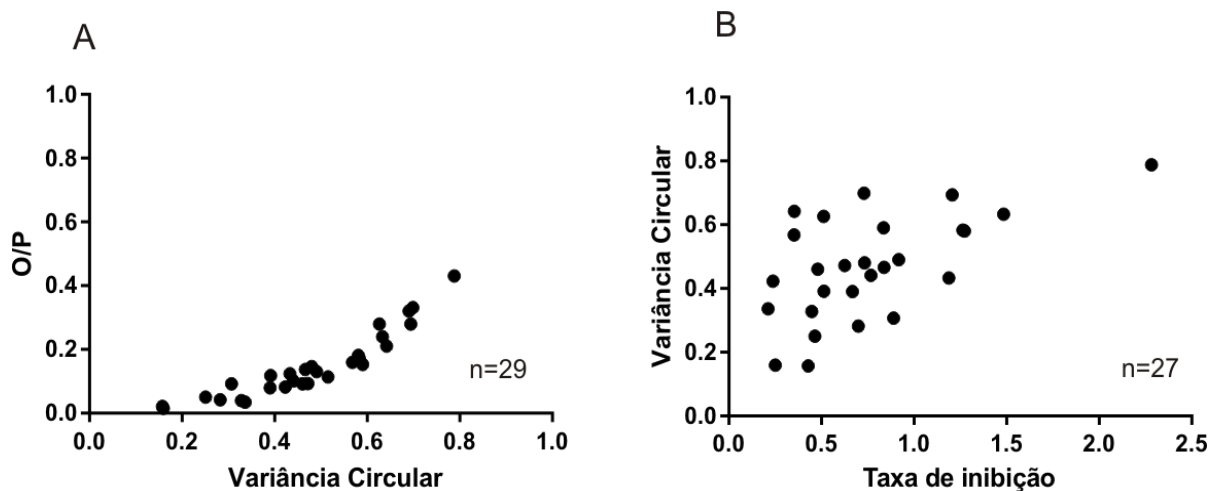
Que processos estariam ligados a essa atenuação da resposta ortogonal e conseqüentemente da condução e modelagem da curva de seletividade a orientação no wulst? Ringach *et al.*, (2002b) sugerem que a inibição intracortical a estímulos diferentes dos ótimos possuem um papel preponderante na geração da seletividade a orientação. De fato, ao observamos a figura 4.8, nota-se que as respostas às orientações fora do pico estão abaixo da atividade espontânea (linha tracejada). A célula em A apresenta valor de VC de 0,33 e em B de 0,42.

Diante disso, foi calculada uma taxa de inibição (resposta na orientação ortogonal dividida pela atividade espontânea) na latência ótima. Se de alguma maneira processos inibitórios intra-wulst participam da emergência da seletividade a orientação esperaríamos uma correlação entre a taxa e as medidas de seletividade acima mencionadas.



**Figura 4.8.** Curvas de seletividade à orientação. Em A e B dois exemplos representativos da amostra, onde as respostas às orientações diferentes da preferida e fora do pico estão abaixo da atividade espontânea. Para as células mais seletivas, há uma maior atenuação na orientação ortogonal. Orientação preferida de A e B: 67,90° e 123,19°. Ortogonal de A e B: 157,90° e 33,19°. Linha tracejada é atividade espontânea.

Essa taxa foi correlacionada com a variância circular e obtivemos uma correlação de  $\rho = 0,58$   $p < 0,01$  (Pearson), figura 4.9. A correlação encontrada entre a taxa e O/P foi de  $\rho = 0,68$ ,  $p < 0,001$  (Pearson). Podemos inferir então que mecanismos inibitórios intra-wulst atuam na emergência da seletividade e de um modo geral, células mais seletivas tendem a ter um maior silenciamento das respostas à orientações ortogonais a preferida.

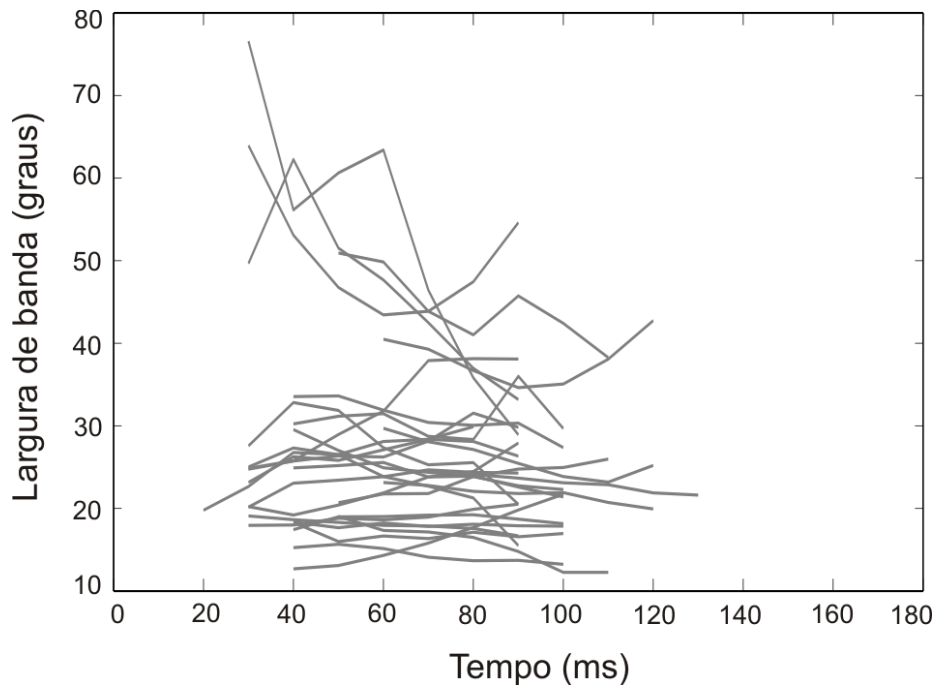


**Figura 4.9.** Relação entre medidas de seletividade à orientação e inibição. Há uma correlação positiva e significativa entre a variância circular e a medida O/P. A variância circular se correlaciona positivamente com a taxa de inibição, indicando uma possível participação de mecanismos inibitórios intra-wulst, em especial nas orientações ortogonais à orientação preferida, na emergência da seletividade à orientação. n=29.

#### 4.2.3. Separabilidade orientação e tempo

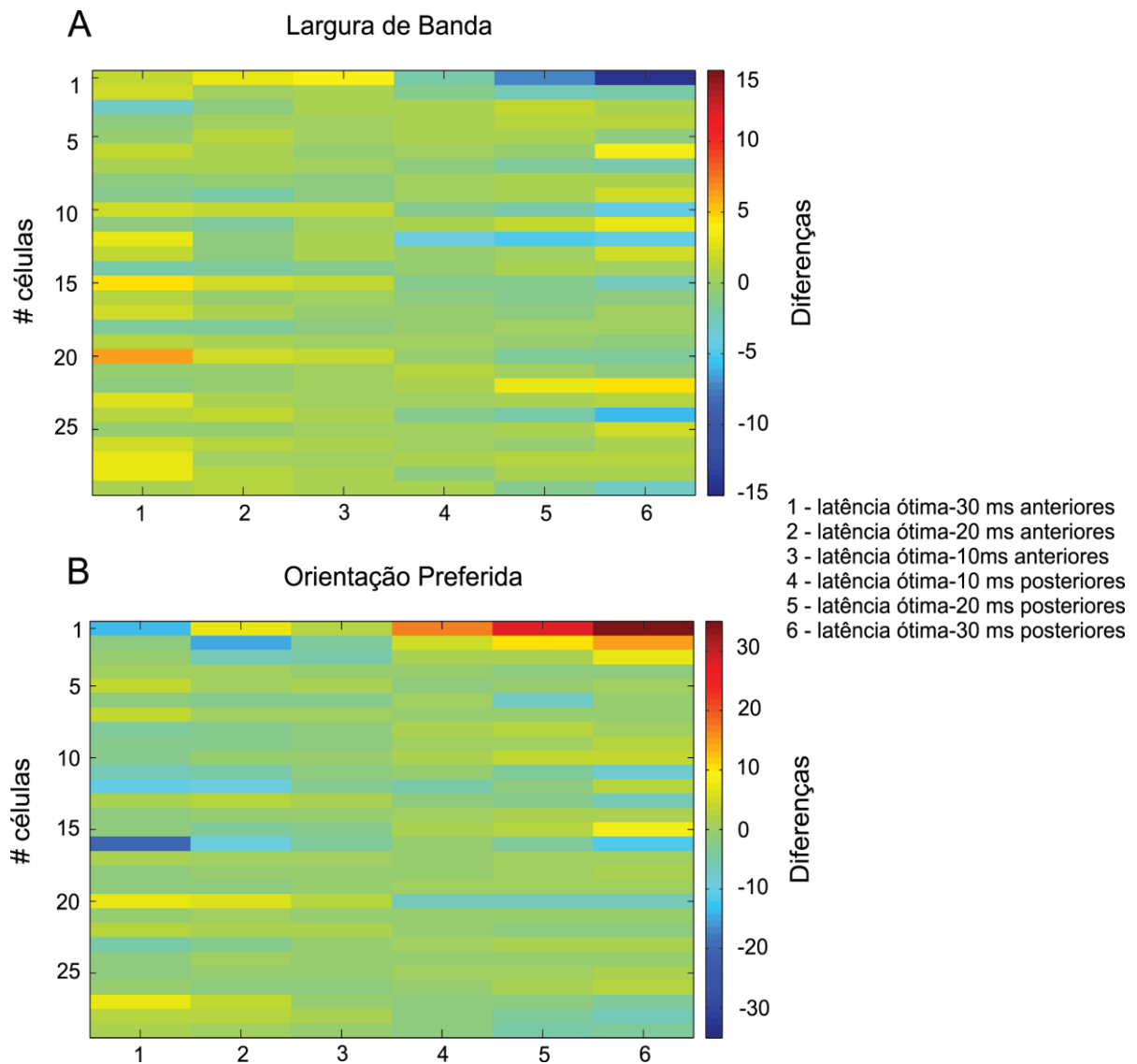
Outra maneira de tentarmos compreender sobre quais os mecanismos estão relacionados a essa emergência da seletividade a orientação é avaliar a separabilidade da orientação em relação ao tempo. Analisar a dinâmica temporal dessa seletividade pode trazer luz para a hipótese de que a mesma é dirigida estritamente por processos talâmicos ou por processos que perpassam no wulst. Dessa forma, para as sete curvas de ajustes obtidas nas sete latências já mencionadas, foram analisadas a largura de banda (LB) e a orientação preferida.

Os neurônios do wulst apresentam uma heterogeneidade da dinâmica temporal da seletividade, como demonstrado na figura 4.10. Observa-se algumas células que mudam a largura de banda, mas de uma forma geral, não há grandes mudanças para as demais células. Populacionalmente, apesar de observamos grandes mudanças nas larguras de banda de algumas células, não há mudanças significativas ao se comparar LBs das curvas da latência ótima com as das demais latências (Wilcoxon,  $p > 0.05$ ).



**Figura 4.10.** Largura de Banda em função do tempo. Algumas células alteram a largura de banda ao longo do tempo, entretanto, para a maioria das células a mesma é mantida constante.  $n=29$ .

Foram testadas também se a média das diferenças entre as larguras e orientações preferidas nas diferentes latências eram significativamente diferentes de zero, caracterizando, portanto, uma alteração na seletividade ao nível populacional. As médias das diferenças não foram significativamente diferentes de zero (Teste-T,  $p>0,05$ ). Na figura 4.11, são apresentadas as diferenças entre as LB em diferentes latências bem como também as diferenças das orientações. Mesmo para essa amostra pequena, observa-se que para a maioria das células, as diferenças se encontram próximas a zero. Ao nível celular, também não foram observadas mudanças significativas, exceto em uma célula, ao compararmos a LB na latência ótima com a LB da latência 30ms a menos da ótima. Já para a orientação preferida, foram encontradas diferenças significativas em 3 células, comparando as curvas da latência ótima com 20 e 30 ms após a mesma.



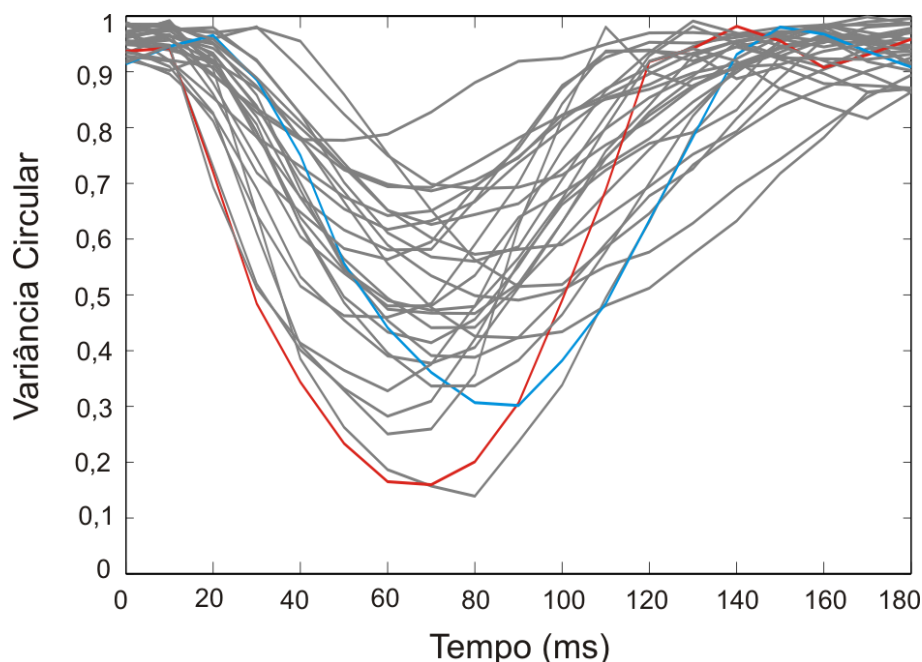
**Figura 4.11.** Diferenças da orientação preferida e da Largura de Banda (LB) entre as latências. Dos valores de orientação preferida e LB das curvas de seletividade obtidos na latência ótima de cada célula foram subtraídos os valores obtidos das curvas nas demais latências. Essas latências foram: 10, 20, 30ms antes e 10, 20,30 ms após a ótima. Observa-se que para a maioria das células há pouca mudança tanto na LB quanto na orientação preferida ao longo do tempo. n=29

O que concluímos, portanto, é que de modo geral a curva de seletividade à orientação no wulst visual não se altera em função do tempo. Isso corrobora a hipótese de que processos talâmicos dirigem a emergência dessa seletividade. A seletividade seria, então, proveniente da convergência das entradas oriundas do NGL, como postula o modelo clássico (Hubel e Wiesel, 1962). Tal afirmativa se faz plausível, uma vez que Pettigrew e Konoshi (1976) declaram a similaridade do NGL da *Tyto alba* com o de mamíferos, com

centros ON e OFF organizados concêntricamente e com aferência direta para o wulst.

Mas além da LB e orientação preferida, a variância circular também foi avaliada ao longo do tempo. A variância circular foi calculada para todas as latências e o que se observa é que ela é próxima de 1 na latências iniciais, diminuindo gradativamente até atingir o valor mínimo na latência ótima e posteriormente, aumenta a valores próximos de 1 novamente. Interessante notar que essa dinâmica temporal é heterogênea também para essa medida mais global da seletividade, com o surgimento da seletividade atingindo seu ápice rapidamente (figura 4.12, curva vermelha) ou não (figura 4.12 curva azul). Populacionalmente, a variância circular é significativamente diferente ao compararmos os valores obtidos na latência ótima com as demais latências (Teste-T pareado,  $p < 0,05$  para todas as comparações).

Assim, se considerarmos apenas o pico da resposta à orientação, em que observamos pouca ou nenhuma mudança em função do tempo concluímos que processos talâmicos dirigem essa seletividade. No entanto, ao analisarmos uma medida mais global, em que as demais orientações são levadas em conta, há uma mudança significativa ao longo do tempo. Dado que, a variância circular se correlaciona fortemente com a taxa de inibição, podemos concluir que a seletividade nos neurônios do wulst é dirigida também por processos intra-wulst que são responsáveis por modelar as borda da curva de seletividade.



**Figura 4.12.** Dinâmica temporal da Variância Circular (VC). A mesma é próxima de 1 nas latências iniciais e finais, conforme o esperado, uma vez que em tais latências os neurônios não apresentam seletividade à orientação. O menor valor de VC é encontrado na latência ótima e varia de célula para célula. A curva vermelha, por exemplo, apresenta os valores de VC para um neurônio que atinge o menor valor rapidamente (em torno de 60 ms), enquanto a curva azul, apresenta uma dinâmica diferente, atingindo o menor valor em torno de 90ms. n=29.

#### **4.2.4. Considerações metodológicas**

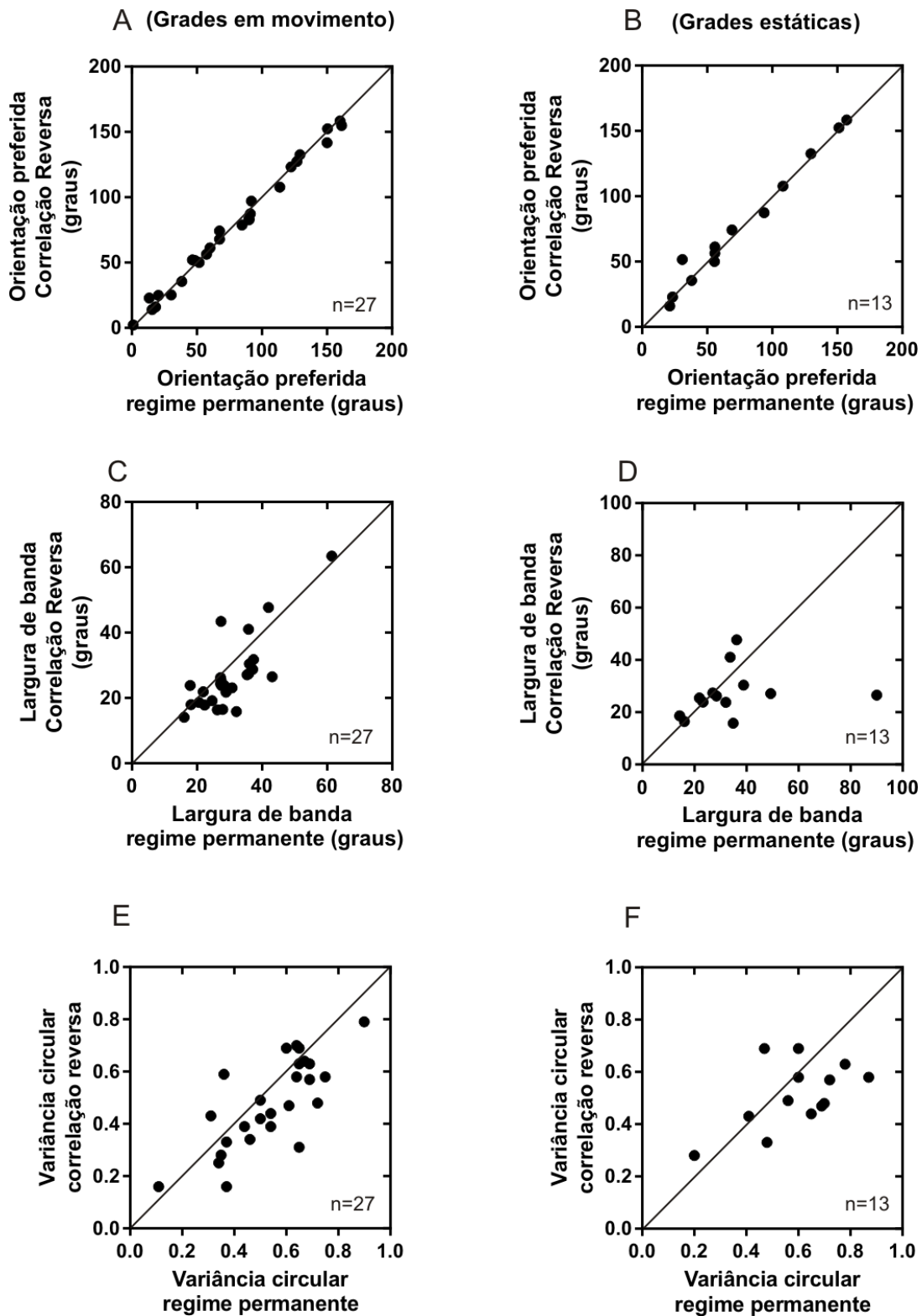
##### **4.2.4.1. Correlação Reversa versus estimulação em regime permanente**

Dentro do contexto do nosso laboratório onde este trabalho foi desenvolvido, venho ressaltar a importância do mesmo, uma vez que até o presente momento a estimulação com uma sequência rápida de grades estáticas (estimulação dinâmica) e a análise por correlação reversa não era utilizada em nossos experimentos. Não obstante os primeiros trabalhos descritos na literatura serem de 1997 (Ringach, 1997), tal método ainda não tinha sido implementado, testado e utilizado em nosso laboratório. Como já mencionado, foram realizadas diversas modificações em nossos softwares para possibilitar a elaboração dos estímulos, apresentação dos mesmos e análise dos dados. A implementação e a padronização do método trouxe ganhos científicos importantes, uma vez que permite a utilização de um método diferente do tradicional, com estimulação em regime permanente, e consequentemente, possibilita responder a diferentes perguntas e paradigmas que o método tradicional responde de forma limitada. Além disso, essa técnica se torna de grande valia no momento de caracterização (aferição da orientação, frequência espacial e fase preferidas) dos neurônios durante as sessões de registros. Atualmente, esse momento de caracterização é feito com estimulação em regime permanente e consome muito tempo das sessões de registro (em torno de 1 hora). Assim, com o método aqui utilizado, o tempo empregado nessa parte inicial dos experimentos será otimizado.

Em conjunto com a estimulação dinâmica alguns neurônios do wulst foram estimulados também por grades senoidais em movimento e estáticas, em regime permanente (para detalhes dos protocolos, Materiais e Métodos, seção 3.5.1), como já citado na seção anterior. Tais protocolos foram



utilizados para verificar a confiabilidade dos dados obtidos por meio da correlação reversa. As orientações obtidas das curvas analisadas por correlação reversa foram comparadas com as obtidas pelo método tradicional. Observa-se que há uma forte correlação entre elas demonstrando que os resultados encontrados por um método são semelhantes ao outro no que tange às orientações preferidas (figura 4.13). As correlações encontradas foram significativas,  $\rho=0,99$ ,  $p<,0001$ , Pearson, para comparação das orientações com aquelas obtidas com grades senoidais em movimento e  $\rho=0,98$ ,  $p<,0001$ , Pearson, para com aquelas obtidas com grades estáticas. Além disso, foram correlacionadas também a largura de banda (LB) e a variância circular (VC). Para os valores obtidos com grades senoidais em movimento e correlação reversa, foi encontrado correlação positiva e significativa, a saber: para LB,  $\rho=0,69$ ,  $p<,0,001$ , Spearman e para variância circular,  $\rho=0,76$ ,  $p<,0,001$ , Pearson. Já para a correlação com as grades estáticas, a correlação é positiva ainda que não seja significativa e foi obtido: para LB,  $\rho=0,52$ ,  $p=0,06$ , Spearman e para variância circular,  $\rho=0,54$ ,  $p=0,05$ , Pearson. Nishimoto *et al.*, (2005) demonstrou, de igual forma, a acurácia e a compatibilidade entre os dois métodos.



**Figura 4.13.** Correlação de parâmetros de precisão das curvas de orientação obtidos por diferentes estimulações. A coluna à esquerda mostra a correlação entre os parâmetros orientação preferida, largura de banda e variância circular obtidos por estimulação em regime permanente com grades em movimento e por estimulação dinâmica. As correlações são positivas e significativas para A, C e E. Na coluna da direita, os mesmos parâmetros são correlacionados com aqueles obtidos por estimulação em regime permanente com grades estáticas. As correlações são positivas e significativa apenas para B. Observa-se que há uma compatibilidade entre os métodos.

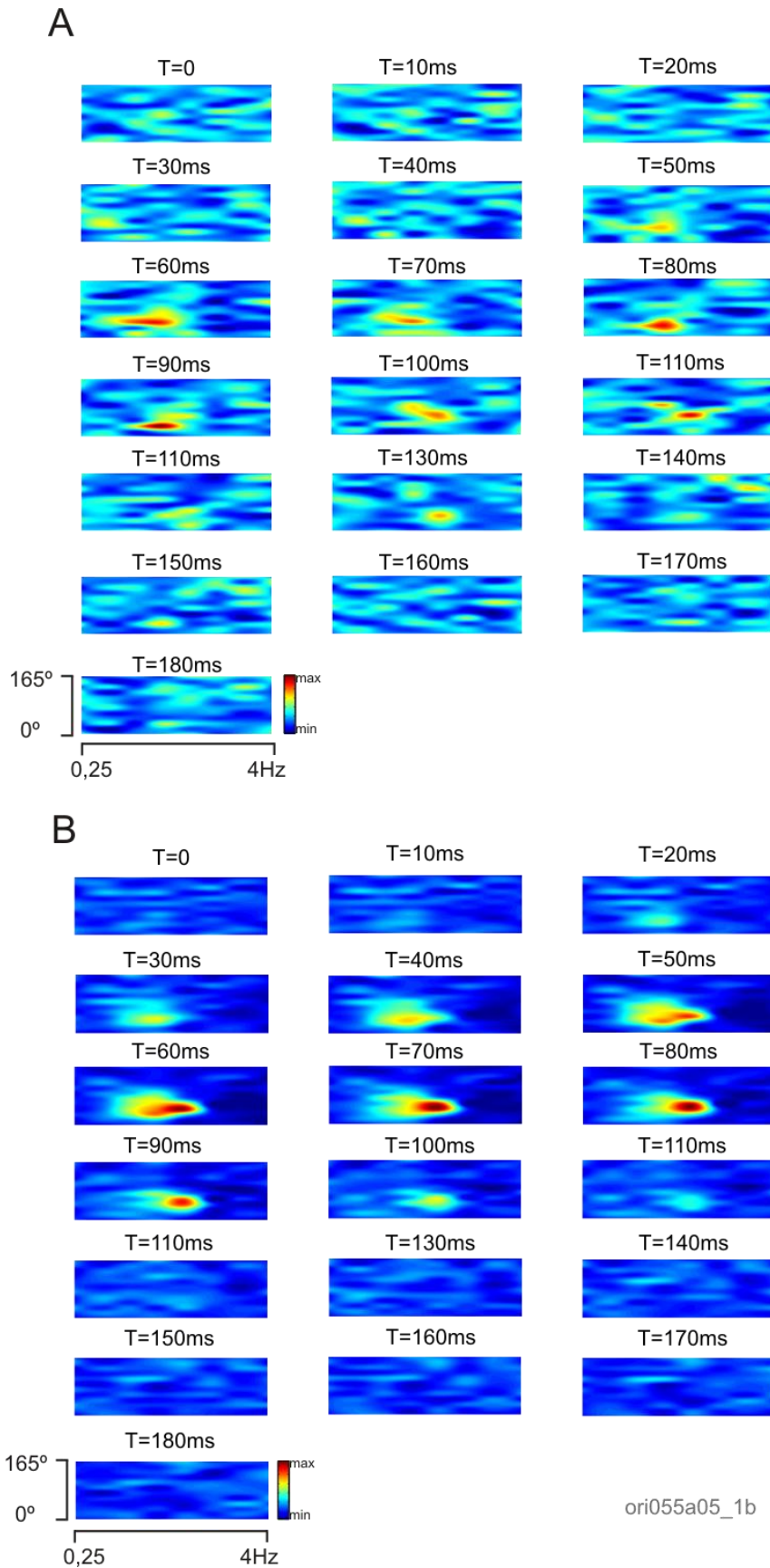
#### 4.2.4.2. Tempo de estimulação

Algumas considerações são necessárias com relação à escolha do tempo de estimulação utilizado no presente estudo. De uma forma geral, alguns trabalhos descritos na literatura utilizam um período de estimulação menor do que o que foi utilizado (Ringach *et al*, 1997). Na verdade, para 19 células foi utilizado um período de estimulação de 20 ms por quadro, uma vez que nosso *setup* experimental permite a apresentação e aquisição dos dados com precisão. Porém, dessa amostra de células apenas três passaram pelo critério de exclusão (Materiais e Métodos secção 3.6.2). Como podemos observar na figura 4.14, para algumas células não houve resposta evocada ou quando esta ocorreu foi muito pequena e não passou pelo critério estabelecido para exclusão.

Ao utilizarmos 50 ms por quadro, de fato, perde-se em resolução temporal, mas ganha-se na relação sinal-ruído. Analisando as três células, como esperado, observa-se que as latências iniciais são maiores do que quando utilizamos 50ms por quadro. Mas as latências ótimas não se alteram muito e nem mesmo os valores de largura de banda e orientação preferida (tabela 4.1). Para trabalhos posteriores tal questão deverá ser ponderada novamente a fim de encontrar uma adequação entre a metodologia e os objetivos propostos por estes trabalhos.

Células	Latência inicial (ms)	Latência ótima (ms)	LB (graus)	Orientação Preferida (graus)
	20ms --- 50ms	20ms --- 50ms	20ms --- 50ms	20ms --- 50ms
A) ori044	60,66 --- 37,61	73,38 ---75,25	23,48 --- 24,36	71,33 --- 67,89
B) ori047	56,66 --- 29,05	72,50 --- 60,63	13,76 --- 17,96	130,63 ---- 127,48
C)ori060	46,25 --- 19,65	56,18 --- 53,82	27,05 --- 26,22	57,29 --- 56,43

**Tabela 4.1.** Comparação de latências e parâmetros da curva de seletividade à orientação em diferentes tempos de estimulação. As três células foram estimuladas com diferentes tempos, 20 e 50 ms por quadro. Observa-se que a latência inicial se altera, porém os demais parâmetros e latência ótima não variam muito quando comparamos uma estimulação com outra.



**Figura 4.14.** Resposta neuronal a diferentes tempos de estimulação. A) Exemplo de resposta de um neurônio estimulado por 20ms/quadro. Houve resposta evocada, porém esta foi muito baixa e não passou pelo critério de exclusão. B) Mesma célula da figura A, porém estimulada com 50ms/quadro. Com essa estimulação a resposta evocada é maior e conseqüentemente, passou pelo critério de exclusão.

### **4.3. Discussão**

#### **4.3.1. Síntese dos resultados**

O presente capítulo teve por objetivo prover mais dados acerca da seletividade à orientação no wulst visual das corujas suindaras. Nossos resultados corroboram com os dados já descritos na literatura (Pettigrew e Konishi, 1976 e Pettigrew, 1979) onde observamos de igual modo que os neurônios do wulst apresentam campos receptivos pequenos, integração binocular e seletividade para orientação e direção do movimento. A seletividade à orientação surge muito rapidamente (média de 43,17 ms na latência ótima) e observamos uma heterogeneidade, com células altamente seletivas apresentando valores de largura de banda e variância circular menores (por exemplo, 23,11° e 0,15, respectivamente), bem como aquelas não tão seletivas com curvas mais largas e com VC maior (por exemplo, 63,40° e 0,78, respectivamente).

Associado a essa caracterização quantitativa da seletividade à orientação, nossos achados trazem, ainda que de forma indireta, luz aos possíveis mecanismos relacionados à emergência da mesma. Apesar de as medidas de seletividade serem fortemente correlacionadas, células com a mesma largura de banda, apresentam variância circular diferentes. Diante disso, nos perguntamos se os mecanismos neuronais que atuam nas bordas das curvas seriam os mesmos daqueles que geram o pico da resposta. Assim, avaliamos a resposta na orientação ortogonal, sua relação com a variância circular e com possíveis indicativos da presença de mecanismos inibitórios intra-wulst (taxa de inibição). Observamos que células mais seletivas tendem a ter uma maior diminuição das respostas abaixo da atividade espontânea nas respostas à orientações ortogonais à preferida.

Ao analisarmos a separabilidade da seletividade no tempo observamos que a largura de banda (medida local) e a orientação não se alteram para a maioria das células da nossa amostra, e o oposto é encontrado para a variância circular. Inferimos, portanto, que a seletividade emerge de forma que o pico da resposta seria dirigido por processos talâmicos excitatórios em conjunto com processos inibitórios intra-wulst especialmente nas orientações ortogonais a preferida.

Alem disso, parece existir uma tendência dos neurônios do wulst serem mais seletivos para as orientações horizontais.

#### **4.3.2. Comparação com estudos prévios no córtex visual primário**

No córtex visual primário de macacos a seletividade a orientação emerge após 30 a 70 ms (Celebrini *et al.*, 1993; Ringach *et al.*, 1997, Mazer *et al.*, 2002) e persiste por 40 a 85 ms (Ringach *et al.*, 1997). Em gatos, Schummers *et al.*, (2007) descreve uma latência inicial de 25 a 50 ms, com média de 34,3 ms e latência ótima com média de 55,8 ms. Além disso, a duração varia bastante, em torno de 30 a 150 ms.

Além disso, em mamíferos, são descritos valores médios de largura de banda de: 20° para gatos, 21° para furões, 25° para esquilos e entre 24° e 40° para macacos (Heimel *et al.*, 2005). Essa seletividade é, portanto, também heterogênea, de modo que as camadas corticais que recebem aferências vindas do núcleo geniculado lateral (NGL) apresentam neurônios menos seletivos do que os das camadas que se projetam para outras áreas visuais (Ringach *et al.*, 1997; Ringach *et al.*, 2002). No wulst, suas camadas mais profundas (IHA e HD) recebem a maior parte das projeções talâmicas e a camada mais superficial (HA) é a fonte de projeções para alvos extra - telencefálicos e intra-telecefálicos (Karten, 1973; Shimizu *et al.*, 1999). No entanto, no presente estudo não foi realizado um controle rigoroso dos locais de registro, com lesões eletrolíticas ao final dos registros, por exemplo, a fim de confirmar posteriormente por meio da histologia em quais camadas do wulst se encontravam as células registradas. Dessa maneira, não é possível estabelecer com certeza se as células registradas estão recebendo aferências talâmicas diretas, ou se são células constituintes da camada HA e, conseqüentemente, determinar uma relação entre a seletividade e localização das células nessas camadas do wulst.

A emergência da seletividade a orientação no córtex visual primário sempre foi alvo de intensos debates desde os achados de Hubel e Wiesel na década de 60. As curvas de seletividade segundo o modelo clássico seriam conceitualmente mais largas, com respostas em todas as orientações, devido à somação linear das aferências vindas do NGL. Para garantir então a

seletividade, o modelo propõe uma filtragem dessa somação por um mecanismo de ajuste de limiar de disparo que garante a seletividade orientacional da célula cortical. Entretanto, tais proposições só são válidas em apenas um contraste. Se o limiar for muito alto, estímulos de baixos contrastes não evocariam respostas supra-limiare. Para que isso aconteça, a célula cortical tem que diminuir seu limiar de disparo resultando em perda da seletividade à orientação. Portanto, o modelo clássico prediz que a precisão da seletividade à orientação muda em função do contraste, o chamado “efeito iceberg”. Porém, registros eletrofisiológicos em V1 mostram que a seletividade à orientação não varia em função do contraste (Sclar e Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987; Fester e Miller, 2000; Carandini, 2007). Além disso, nos registros eletrofisiológicos observam-se neurônios com pouca ou nenhuma resposta nas orientações fora do pico da curva de seletividade como na orientação ortogonal, por exemplo, (Ringach *et al.*, 2003). Diante disso, as incongruências entre o modelo clássico e o que se observa nos registros poderiam ser sanadas com a inibição intracortical, que surge como outro mecanismo para tentar explicar a emergência da seletividade.

Assim, os indicativos da presença de mecanismos inibitórios intra-wulst são no mínimo plausíveis, considerando o que foi acima exposto, e observando nos neurônios do wulst pouca resposta a orientações fora do pico da curva, além da ocorrência do fenômeno de invariância ao contraste em algumas células do wulst (Amorim, 2011). Corroborando os achados do presente estudo, Baron *et al.*, (2007) observou efeitos supressores dos padrões xadrez (*plaids*), e sugere a existência de inibição trans-orientação (*cross-orientation suppression*) e conseqüentemente mecanismos de inibição no wulst visual. Tal inferência é aceitável uma vez que a inibição trans-orientação é uma das evidências funcionais de inibição entre neurônios com diferentes orientações (Morrone *et al.*, 1982, 1987). Ademais, Pettigrew (1979) demonstrou que em penetrações tangenciais a orientação muda gradualmente no wulst da coruja suindara, indicando uma organização colunar. Corroborando com esses resultados, Liu e Pettigrew (2003) descreveram essa organização colunar da orientação no wulst por meio de imageamento óptico, sendo possível, portanto, conectividade entre regiões com diferentes preferências de orientação por projeções inibitórias.

Inferimos, portanto, que processos talâmicos excitatórios aliados a processos inibitórios intra-wulst especialmente nas orientações ortogonais a preferida seriam responsáveis pela emergência da seletividade a orientação no wulst. Sato *et al.*, (1996) e Ringach *et al.*, (2002b,2003) demonstraram, por métodos diferentes, evidências dos mesmos processos de emergência da seletividade a orientação em macacos.

Com relação à separabilidade da seletividade no tempo, na literatura em geral, há resultados controversos. Foram observadas alterações na seletividade a orientação ao longo do tempo (Ringach *et al.*, 1997; Ringach, 2003, Chen *et al.*, 2005; Sharon e Grinvald, 2002, Xing *et al.*, 2005, Schummers *et al.*, 2007), mas outros estudos demonstraram também que a seletividade é relativamente constante (Celebrini *et al.*, 1993; Gillespie *et al.*, 2001; Mazer *et al.*, 2002; Nishimoto *et al.*, 2005). Modelos experimentais diversos, estimulação e metodologias de análise diferentes, podem explicar a diversidade de resultados encontrados. Por exemplo, Schummers *et al.*, (2007) apresentam um contraponto interessante para essa falta de consenso: a dinâmica temporal da seletividade pode se alterar em função da localização vertical ou horizontal dentro da rede cortical. Portanto, todos esses fatores devem ser ponderados. Mesmo com essa ressalva, essa abordagem avaliando a dinâmica temporal por meio da correlação reversa continua sendo interessante à medida que traz contribuições para o entendimento sobre as mudanças rápidas nos circuitos corticais, bem como sobre a emergência da seletividade a orientação.

#### **4.3.3. Consequência funcional**

Nossos achados contribuem para aumentar o entendimento acerca da percepção visual nas corujas suindaras, provendo o substrato neuronal para algumas questões ainda em aberto. Harmening *et al.*, (2011) mostraram que essa espécie de coruja é capaz de detectar alvos orientados em experimentos em que não desempenharam qualquer tarefa, e estavam com livre movimentação da cabeça. As corujas olharam por mais tempo, mais frequentemente e mais rapidamente para o alvo orientado do que para os distratores (elementos dispostos em orientação diferente da do alvo), indicando assim a presença do fenômeno da saliência visual (*pop-out*) nessa espécie. Como as corujas suindaras são excelentes caçadoras, especializadas nessa



tarefa em condições ambientais diversas vezes não muito favoráveis (baixa luminosidade, por exemplo), tal fenômeno é muito importante para detectar mais rapidamente uma presa. Em 2015, Orłowski e colaboradores treinaram as corujas em tarefas que testaram a saliência visual para orientação. Eles observaram o fenômeno, e o mesmo é independente do número de distratores utilizados (de 15 a 63). Assim, como em primatas, as corujas são capazes de realizar tarefas de busca visual, tarefa essa fundamental para a sobrevivência do animal. Entretanto, qual (is) área (s) cerebral (is) estaria (m) envolvida (s) nesse fenômeno?

O teto óptico (TO), possível região candidata a processar a saliência visual, uma vez que ela está ligada a seleção de alvos mais salientes para direcionamento da atenção (Knudsen, 2007), foi o alvo de estudos de Zahar e colaboradores (2012). Por meio de registros eletrofisiológicos nessa região, eles observaram que os neurônios do TO não são sensitivos a saliência visual para orientação. Dado que a saliência baseada na orientação está de algum modo relacionada a neurônios sensíveis a orientação (Razada e Grossberg, 2001) e que encontramos em nossos resultados, neurônios no wulst visual altamente seletivos a orientação, podemos sugerir que o mesmo esteja relacionado a esse fenômeno.

O wulst visual, mesmo não possuindo uma estrutura de neocortex, poderia ser o responsável por essas tarefas complexas como a saliência visual para orientação e também para a geração da percepção de contornos ilusórios (Nieder e Wagner, 1999).

# Capítulo 5

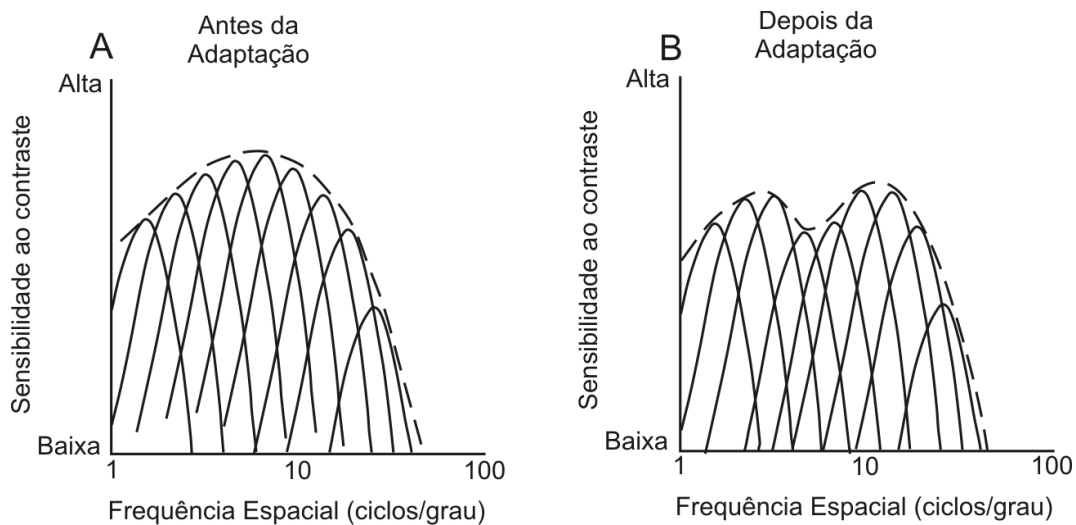
## Seletividade à frequência espacial

---

---

## 5.1. Introdução

Os estudos da década de 60 do século passado trouxeram um grande arcabouço para o conhecimento a cerca da seletividade dos padrões espaciais de luminância. Colin Blackmore e Fergus Campbell publicaram em 1969 um estudo clássico em que demonstram a existência de múltiplos canais seletivos à frequência espacial. As funções de sensibilidade ao contraste foram medidas antes e após o observador ser submetido à adaptação a uma grade senoidal em uma determinada frequência espacial. Eles observaram que a adaptação resulta numa perda de sensibilidade apenas para uma pequena parte (especialmente nas frequências próximas àquela utilizada na adaptação) do que para todo o espectro de frequências testadas. Assim, o sistema visual possuiria uma sobreposição de canais sensíveis a uma série ou a uma variedade de frequências espaciais, figura 5.1, (Blackmore e Campbell, 1969).



**Figura 5.1.** Representação da hipótese dos múltiplos canais seletivos a frequência espacial. A) A função de sensibilidade (curva pontilhada) ao contraste seria oriunda da sobreposição de vários canais sensíveis a diferentes faixas de frequências espaciais. B) O abaulamento na curva é decorrente de uma adaptação seletiva à frequências espaciais próxima àquela utilizada na adaptação. Adaptado de Palmer, 1999.

Se a hipótese dos múltiplos canais era real, em algum lugar do sistema visual os mesmos deveriam estar presentes. A partir dos trabalhos clássicos de Hubel e Wiesel em gatos e macacos, as células do córtex visual primário se tornaram, portanto, alvos de intensos estudos. Desde então, a seletividade espacial tem sido investigada nessa área (Campbell *et al.*, 1969), corroborando com os achados do estudo psicofísico de Blackmore e Campbell.

O núcleo geniculado lateral do tálamo (NGL) tem campos receptivos concêntricos e organizados em regiões centro-periferia antagônicas, e apresentam pouca seletividade para orientação e frequência espacial. E os neurônios do NGL são predominantemente filtros passa-baixa para frequência espacial (De Valois *et al.*, 1982b). Uma das propriedades notórias das células do córtex visual primário é sua filtragem passa-faixa. Em contraste aos neurônios talâmicos, os neurônios do córtex visual primário (V1), classificados como células simples, possuem campos receptivos alongados e com duas a três subregiões de polaridade alternada (Hubel e Wiesel, 1962). Essas células possuem alta seletividade tanto para orientação quanto para frequência espacial (De Valois *et al.*, 1982).

Isso posto, os neurocientistas da visão tem se perguntado como ocorre essa transformação da seletividade da frequência espacial de um estágio de processamento visual para o outro, do NGL para o córtex visual primário. Os dois tipos de modelos propostos para explicar a seletividade à orientação, também são sugeridos para explicar a seletividade à frequência espacial. Como já mencionado anteriormente, os modelos hierárquicos ou embasados no modelo clássico proposto por Hubel and Wiesel, assumem que a somação das entradas espacialmente alinhadas provenientes do NGL pelos neurônios corticais são suficientes para prover essa seletividade. Temporalmente, a seletividade a frequência espacial seria separável do tempo, de maneira que não haveria mudanças nas curvas de seletividade em função do mesmo (Bredfeldt e Ringach, 2002).

Outros modelos, no entanto, sugerem que a seletividade cortical é produzida principalmente através de mecanismos intracorticais. Estes modelos sugerem que a seletividade cortical depende das entradas do NGL e é refinado através influências inibitórias (Ben-Yishai *et al.*, 1995; Somers *et al.*, 1995; McLaughlin *et al.*, 2000). Assim, as curvas de seletividade seriam inicialmente

mais largas, refletindo a seletividade proveniente do NGL e ao longo do tempo, por meio de mecanismos inibitórios intracorticais, elas se tornariam mais estreitas, ou seja, mais seletivas (Bredfeldt e Ringach, 2002).

No presente capítulo, avaliamos a seletividade à frequência espacial nos neurônios do wulst visual da coruja suindara bem como a dinâmica temporal relacionada a essa propriedade. Para tal, utilizamos a mesma abordagem já apresentada no capítulo anterior.

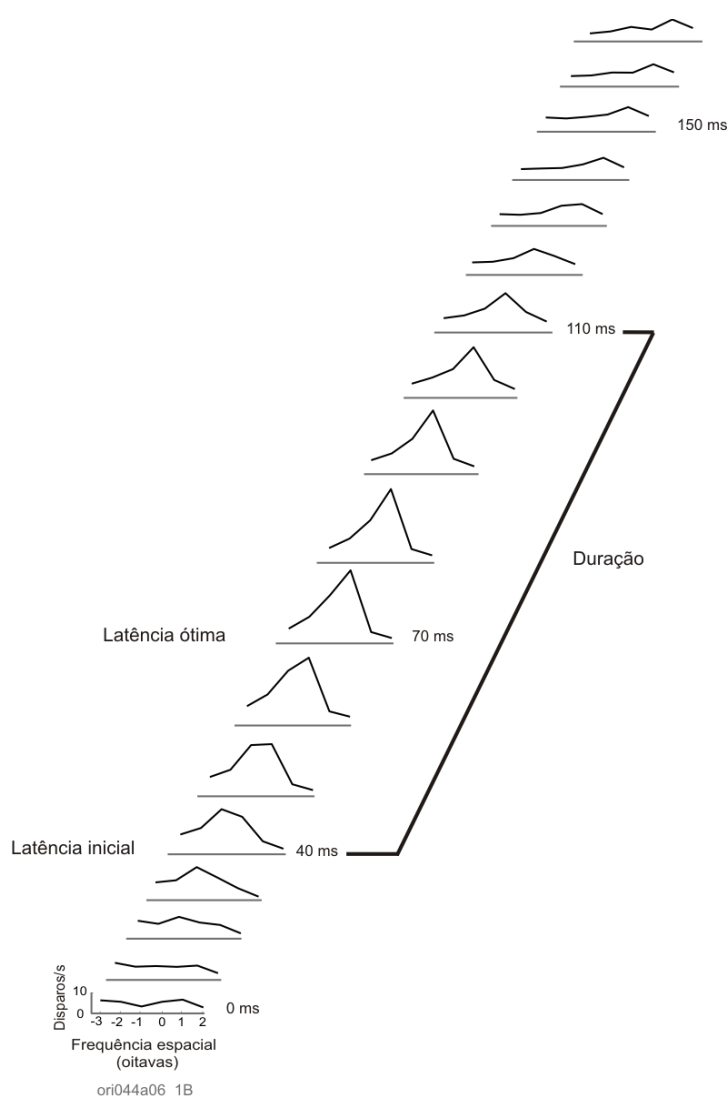
Em estudo anterior, a seletividade a frequência espacial foi avaliada brevemente por Wagner e Frost (1994), porém dentro de uma investigação sobre a disparidade binocular na coruja suindara. Pinto e Baron (2009) demonstraram em estudo mais detalhado que o wulst visual de corujas buraqueiras, uma das espécies mais diurnas entre as corujas, possui neurônios com curvas passa-faixa para uma ampla faixa de frequências. Posteriormente, em 2010, Pinto e Baron descreveram a dinâmica temporal da seletividade a FE, entretanto com uma abordagem diferente da utilizada aqui. Os dados obtidos no presente capítulo poderão trazer luz sobre a emergência de tal propriedade na coruja suindara, uma vez que os dados são escassos na literatura e assim fornecer algum substrato neural para os achados psicofísicos sobre a acuidade visual e sensibilidade ao contraste nessa espécie de coruja (Harmening *et al*, 2009, Orłowski *et al*, 2012).

## 5.2. Resultados

### 5.2.1. Dinâmica temporal e caracterização da seletividade à frequência espacial

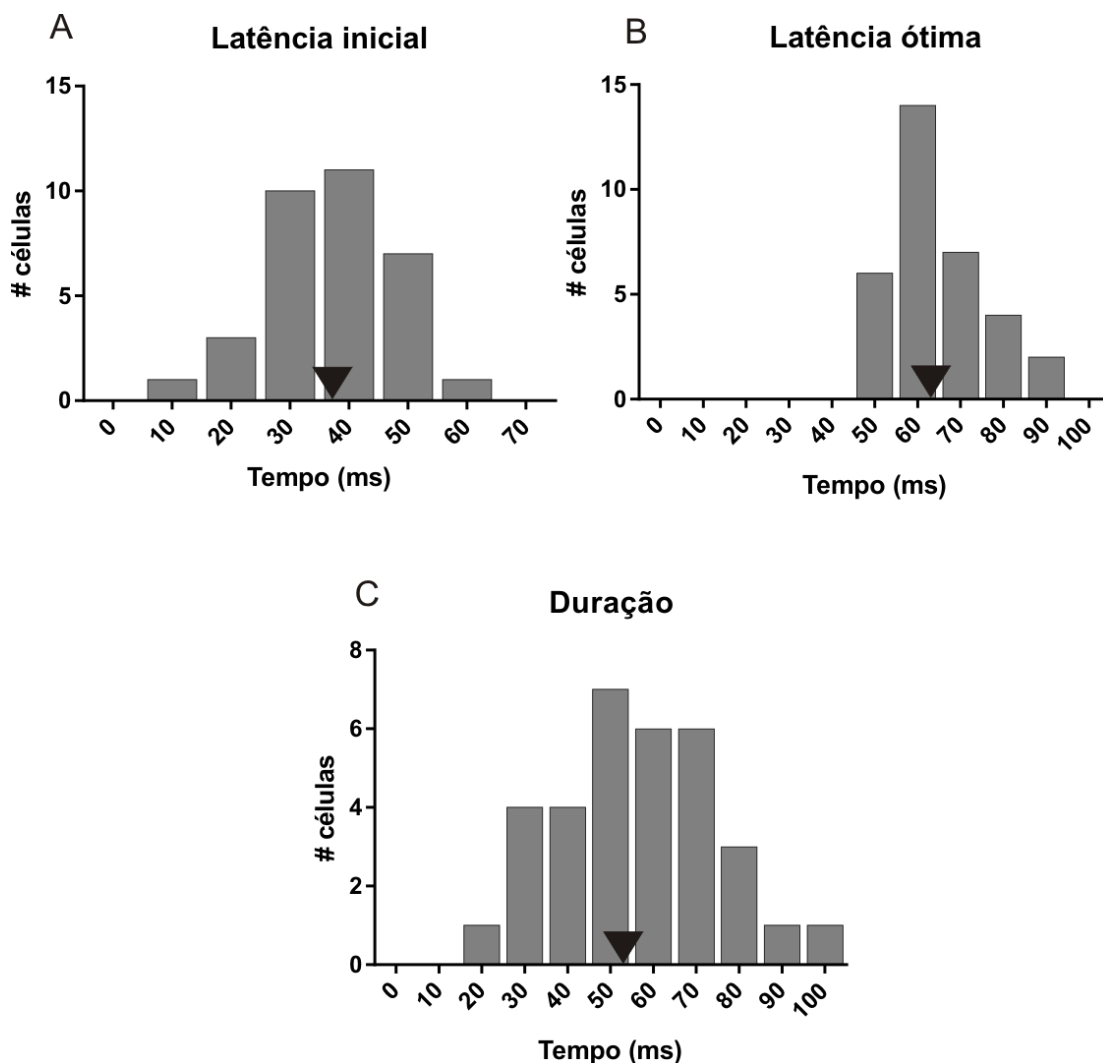
A dinâmica temporal e a caracterização da seletividade à frequência espacial (FE) foram analisadas por meio do método de correlação reversa para 61 neurônios. Desses, 28 foram excluídos segundo o critério descrito em Materiais e Métodos, item 3.6.2. Totalizando assim 33 células utilizadas nas análises seguintes.

Inicialmente foram utilizadas 5 frequências (-2 a 2 oitavas, em passos de 1 oitava) espaciais e ao longo do estudo foram acrescentadas mais 3 frequências (- 4 a 3 oitavas, em passos de 1 oitava) à série em questão. As análises abaixo foram realizadas na orientação preferida da célula. O que se observa é o aumento gradual da resposta dos neurônios do wulst visual às diferentes frequências espaciais apresentadas, com o pico da resposta indicando a latência ótima para cada célula (figura 5.2). Essa latência ótima, bem como a inicial e a duração da seletividade varia de célula para célula.



**Figura 5.2.** Dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial. A atividade aumenta progressivamente, atingindo uma resposta máxima e depois decresce nas latências finais. As latências variam de célula para célula.

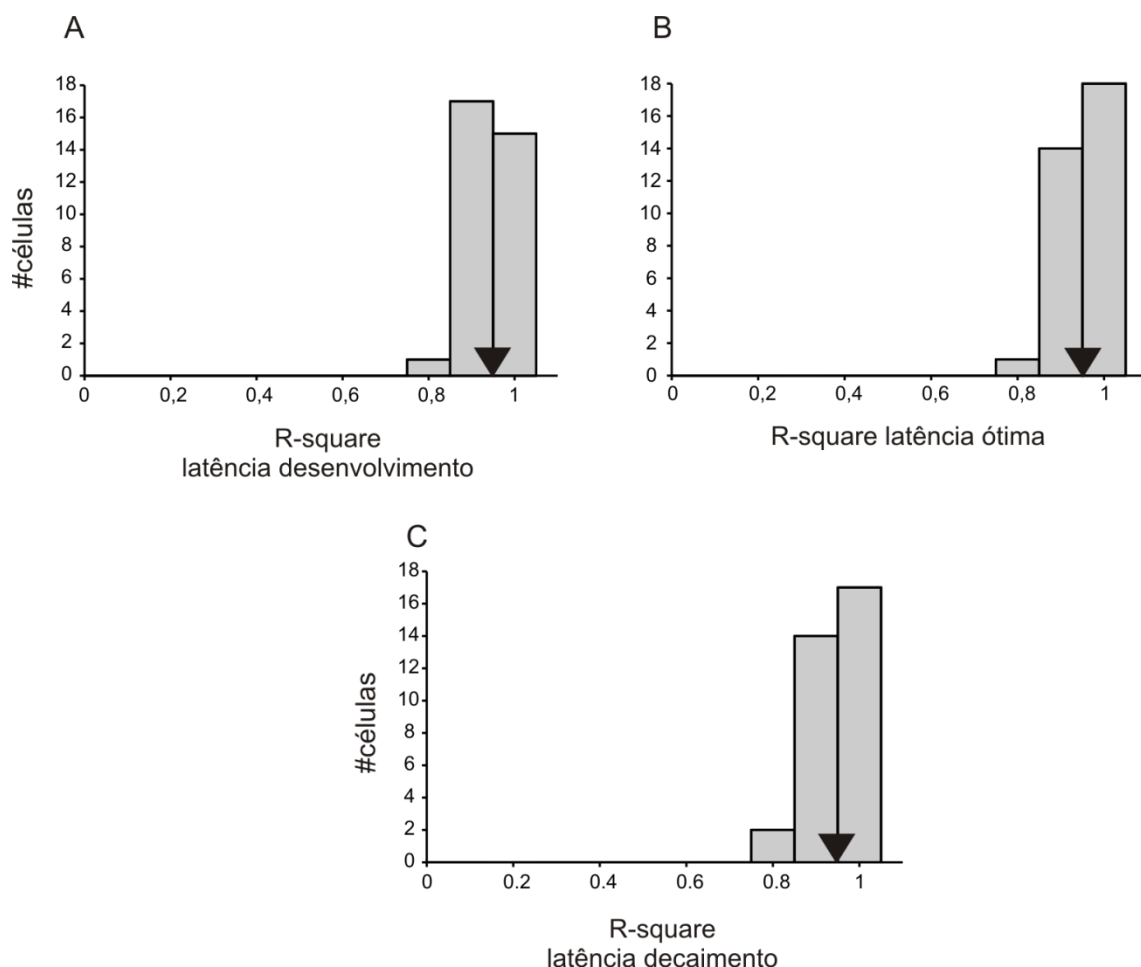
Os dados populacionais revelam que a média da latência inicial é de 37,70 ( $\pm 11,06$  DP), a média da duração é 55,99 ms ( $\pm 18,92$  DP) e da latência ótima 65,70 ms ( $\pm 10,42$  DP), como demonstrado na figura 5.3.



**Figura 5.3.** Dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial, dados populacionais. A) latência inicial, com média de 37,70 ms. B) latência ótima, com média de 65,70 ms e C) Duração da seletividade, com média de 55,99 ms. As setas pretas indicam os valores médios. n=33.

As curvas de resposta foram então ajustadas (Materiais e Métodos, secção 3.6.6) e os perfis de resposta foram bem capturados pela função de ajuste, como podemos observar nas distribuições do R-square nas latências de desenvolvimento, ótima e decaimento, figura 5.4. A média encontrada foi de 0,94, 0,95 e 0,94 para as respectivas latências anteriormente mencionadas. Assim como para a caracterização da orientação as análises posteriores foram

realizadas para as seguintes latências: latência ótima, 10, 20 e 30 ms a menos que a ótima e 10, 20 e 30 ms após a ótima, totalizando, portanto, 7 curvas de ajustes. Entretanto, nesse capítulo, detivemos as análises nas comparações entre a latência de desenvolvimento (10ms antes da latência ótima) e de decaimento (10ms após a ótima).

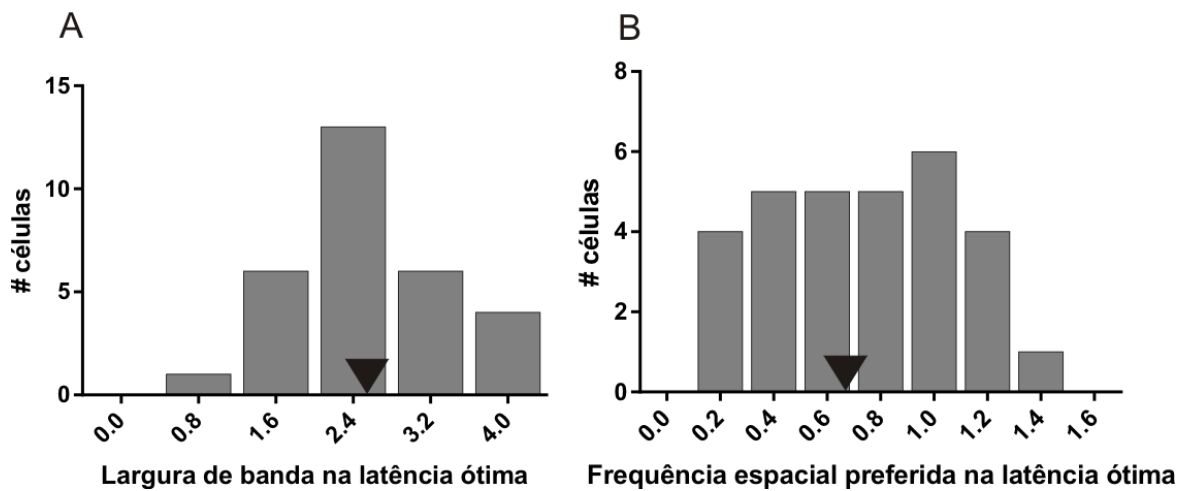


**Figura 5.4.** Distribuição dos valores de R-square. A a C distribuição do R-square nas sete latências de desenvolvimento, ótima e decaimento. Valores próximos a 1 significam que houve um bom ajuste dos dados. As setas pretas indicam os valores da média. n=33.

A medida de seletividade, que é a largura de banda, foi calculada na latência ótima, na latência de desenvolvimento e na de decaimento. Na figura 5.5, observamos a distribuição da largura de banda na latência ótima, com média de 2,54 (0,72 DP) e mediana de 2,49 oitavas. Além disso, na figura 5.5 está plotada a distribuição da frequência espacial preferida para os neurônios em análise, na latência ótima. O pico da resposta varia de 0.18 (ciclos/grau) a



1.46 (ciclos/grau), com média de 0,72 (ciclos/grau) e mediana de 0,79 (ciclos/grau).



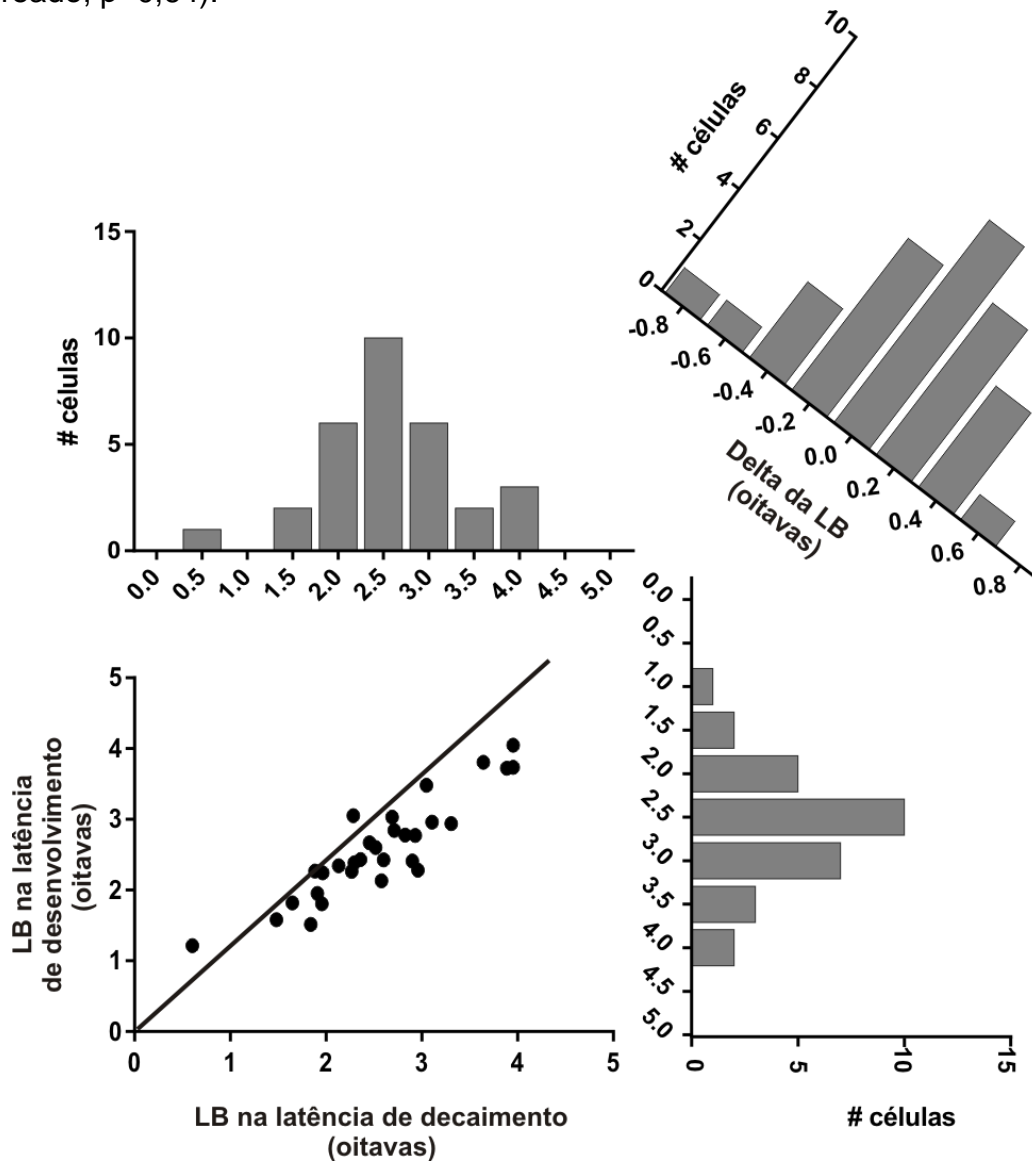
**Figura 5.5.** Medida da seletividade à frequência espacial. A) Largura de banda na latência ótima, com média de 2,54 oitavas. B) Frequência espacial preferida, na latência ótima, com média de 0,72 (ciclos/grau). As setas pretas indicam os valores médios. n=33.

### 5.2.2. Separabilidade da frequência espacial e tempo

Utilizamos a mesma abordagem do capítulo anterior para caracterizar melhor a emergência dessa propriedade no wulst visual. Dessa forma avaliamos a separabilidade da frequência espacial em função do tempo. A largura de banda e a frequência espacial preferida foram calculadas e avaliadas para as latências de desenvolvimento e decaimento.

A largura de banda não varia muito ao longo do tempo. As médias encontradas nas latências de desenvolvimento, ótima e decaimento foram respectivamente: 2,58, 2,54 e 2,55 oitavas. Na figura 5.6 está representada a distribuição da largura de banda na latência de desenvolvimento e de decaimento. Essa figura também ilustra essa tendência de pouca variação na seletividade à frequência espacial. O histograma com a distribuição da diferença ( $\Delta = \text{LB do decaimento} - \text{LB do desenvolvimento}$ ) entre os valores da largura de banda também ilustra essa tendência com valores distribuídos em torno de zero. A média desses valores é de -0,02 e estatisticamente essa média não é diferente de zero (Teste-T, one sample,

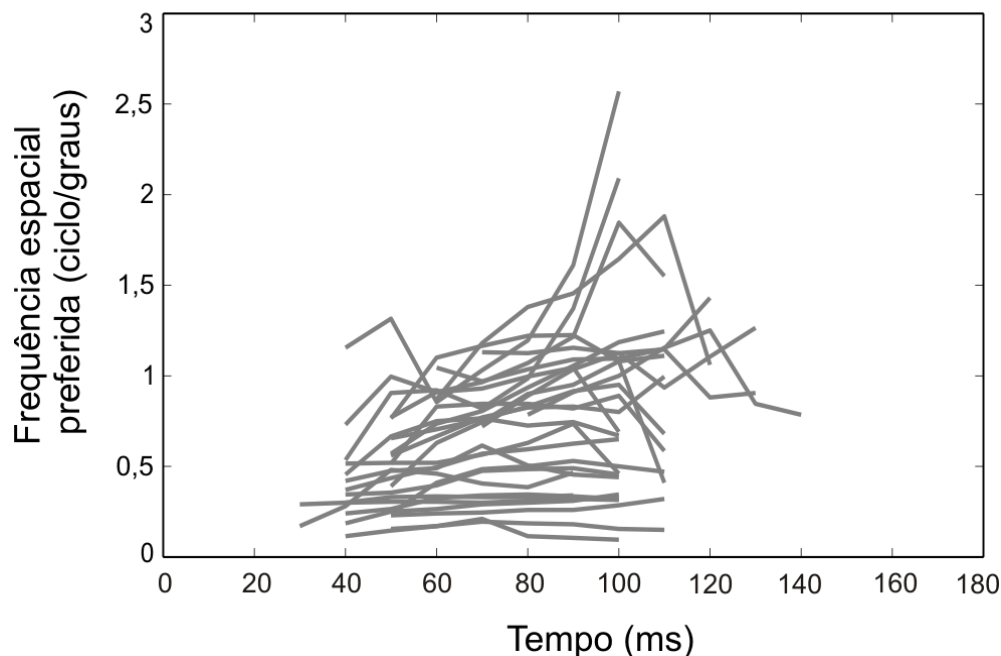
$p=0,64$ ). Além disso, estatisticamente, não há diferença entre os valores de largura de banda nas latências de desenvolvimento e de decaimento (Teste-T pareado,  $p=0,64$ ).



**Figura 5.6.** Análise da dinâmica temporal da seletividade à frequência espacial. Distribuição da largura de banda (LB), em oitavas, na latência de decaimento e de desenvolvimento. Além disso, a distribuição da diferença entre os valores de LB nas duas referidas latências (Delta da LB) indicam que eles não se alteram significativamente ao longo do tempo.  $n=33$ .

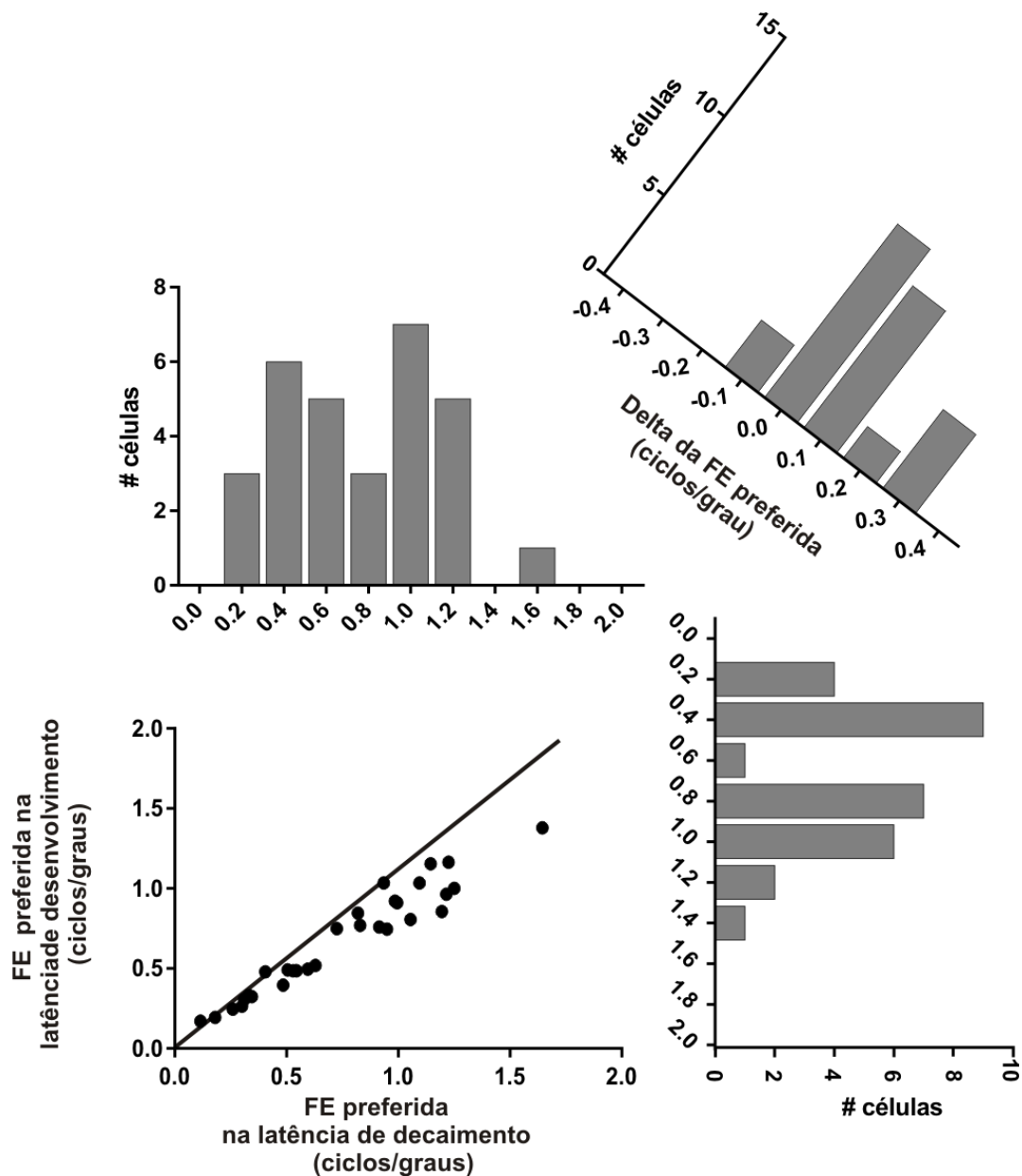
Encontramos células em que a FE preferida aumenta com o passar do tempo, mas também há células que a preferida é mantida constante. A figura 5.7 ilustra o comportamento da FE preferida ao longo do tempo. Porém ao avaliarmos as médias em diferentes latências, o que se observa é que há uma pequena tendência a um aumento da FE ao longo do tempo. As médias

encontradas foram 0,67, 0,74 e 0,75 ciclos/grau nas latências de desenvolvimento, ótima, e decaimento, respectivamente.



**Figura 5.7.** Frequência espacial preferida em função do tempo. Algumas células alteram a FE preferida, com o aumento da mesma ao longo do tempo. Entretanto, observa-se também que para algumas células a mesma é mantida constante.  $n=33$ .

Na figura 5.8 está representada a distribuição dos valores da FE preferida na latência de desenvolvimento e de decaimento conjuntamente com a distribuição da diferença das FE preferidas nestas latências. A média encontrada das diferenças ( $\Delta = \text{FE preferida na latência de decaimento} - \text{FE preferida na latência de desenvolvimento}$ ) foi de 0,07. Estatisticamente essa média é diferente de zero (Teste-T, one sample,  $p < 0,001$ ). Além disso, observamos que a distribuição se encontra deslocada para a direita indicando que os valores da FE preferida na latência de decaimento são ligeiramente maiores do que os da latência de desenvolvimento. Populacionalmente, as FE preferidas encontradas na latência de desenvolvimento são diferentes das encontradas na de decaimento (Teste-T pareado,  $p < 0,01$ ).



**Figura 5.8** Análise da dinâmica temporal da frequência espacial preferida. Distribuição da FE preferida na latência de decaimento e de desenvolvimento. Distribuição da diferença dos valores da preferida nas duas referidas latências (Delta FE preferida). A frequência espacial preferida se altera ao longo do tempo. Nas latências finais a FE é maior do que nas latências mais iniciais.  $n=33$ .

Pinto e Baron (2010) descrevem que em corujas buraqueiras não há mudanças significativas na frequência espacial preferida, porém observaram mudanças na seletividade. A largura de banda diminuiu, ou seja, a célula se tornou mais seletiva e eles observaram que tal mudança está relacionada com um aumento na supressão a baixas e não a altas frequências espaciais.

Bredfeldt e Ringach (2002) observaram um aumento na FE preferida correlacionada com um aumento da seletividade ao longo do tempo no córtex visual de macacos. Dessa forma, há uma mudança da FE preferida de baixas

frequências para altas e a célula se torna mais seletiva com o passar do tempo. Eles observaram também que essas mudanças estão relacionadas com uma supressão a baixas frequências espaciais. Diante disso, na próxima seção avaliamos um possível papel da inibição tanto nas baixas quanto nas altas frequências.

### **5.2.3. Inibição intra-wulst e seletividade a frequência espacial**

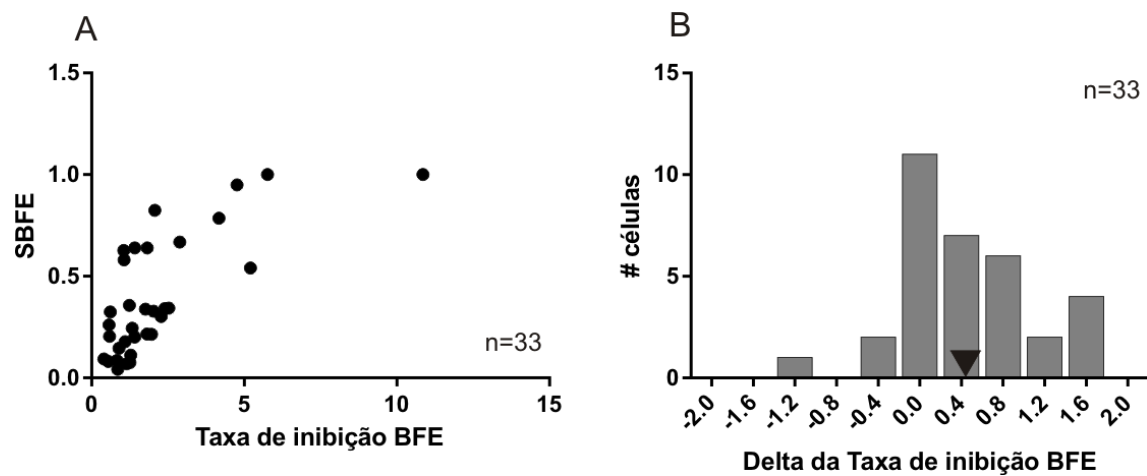
Uma medida de seletividade mais global (Vreysen et. al., 2012) também foi avaliada: a supressão a baixas frequências espaciais (SBFE). E de maneira análoga, a supressão a altas frequências espaciais (SAFE) também foi calculada. A SBFE e SAFE nada mais são do que a resposta na menor e maior frequência espacial apresentada dividida pela resposta da FE preferida, respectivamente. Tanto a SBFE quanto a SAFE foram calculadas para as sete latências.

De igual modo, para as sete latências as taxas de inibição foram calculadas: resposta da menor FE apresentada dividida pela atividade espontânea (taxa de inibição BFE) e o mesmo cálculo para a maior FE apresentada (taxa de inibição AFE). Para a latência máxima, as duas medidas de seletividade foram correlacionadas com suas respectivas taxas de inibição. O que se observa é que a SBFE é significativamente correlacionada com a taxa de inibição BFE ( $\rho=0,69$ ,  $p<0,0001$ , Spearman) diferentemente da SAFE ( $\rho=0,24$ ,  $p=0,16$ , Pearson), figura 5.9.

Observamos também que a inibição às baixas frequências espaciais aumenta ao longo do tempo. A figura 5.9 mostra a distribuição da diferença entre a taxa de inibição na latência de decaimento e de desenvolvimento. Observa-se que a mesma se encontra levemente deslocada para direita, indicando que os valores encontrados na latência de decaimento são maiores do que aqueles na latência de desenvolvimento. A média encontrada foi de 0,44. A média das diferenças foi testada a fim de verificar se a mesma era diferente de zero. Estatisticamente a média é diferente de zero (Test T one sample,  $p<0,0001$ ), corroborando que a inibição diminui ao longo do tempo.

Sumarizando, os neurônios do wulst visual da coruja suindara apresentam uma mudança na frequência espacial sem, no entanto, alterar sua seletividade.

A frequência espacial preferida aumenta ao longo do tempo, apresentando um processamento do estímulo grosseiro para o mais fino. Além disso, a seletividade não se altera ao longo do tempo. Uma vez que a seletividade não se altera, infere-se que essa parte central da curva é conduzida por processos talâmicos. Entretanto, para consolidação de todo o processo de emergência da seletividade a frequência espacial, uma supressão a baixas frequências parece ser necessária também nos neurônios do wulst visual.



**Figura 5.9.** A) Correlação entre taxa de inibição à Baixa Frequência Espacial e a medida de seletividade global SBFE. Há forte correlação entre as mesmas, indicando mecanismos inibitórios relacionados às respostas na baixa frequência espacial. B) Distribuição das diferenças da taxa de inibição à Baixa Frequência Espacial nas latências de desenvolvimento e decaimento. Média da distribuição é de 0,44. n=33.

### **5.3. Discussão**

#### **5.3.1. Síntese dos resultados**

Os presentes resultados corroboram os achados de Wagner e Frost (1994) onde fizeram uma breve caracterização da seletividade à FE nas corujas suindaras, bem como com os encontrados por Pinto e Baron (2009) em corujas-buraqueiras, ou seja, o wulst possui neurônios seletivos a uma ampla faixa de freqüências espaciais. Interessante observar, no entanto, é que a freqüência espacial média preferida difere ligeiramente com relação à outra espécie de coruja. Nas corujas buraqueiras, Pinto e Baron (2009) descreveram uma FE preferida média de 1,40 ciclos /grau, valor quase duas vezes maior do que o encontrado na coruja suindara (0,72 ciclos/grau, na latência ótima).

A seletividade à FE foi medida pela largura de banda e o valor médio encontrado, 2,54 oitavas, se assemelha com o valor encontrado em corujas buraqueiras (2,6 oitavas em Pinto e Baron, 2009).

Foi observada uma inseparabilidade espaço temporal com a mudança da FE preferida ótima ao longo do tempo para algumas células. O que se constata é que com o passar do tempo os neurônios respondem mais a FE mais altas. Inicialmente um processamento de estímulos grosseiros e depois os mais finos, mais detalhados (*coarse-to-fine processing*). Entretanto, a seletividade à FE não se altera ao longo do tempo. Além disso, processos inibitórios relacionados a freqüências espaciais não-otimais em baixas freqüências parecem estar relacionados com a emergência dessa seletividade.

#### **5.3.2. Comparação com estudos prévios no córtex visual primário**

A título de comparação, em macacos *Rhesus* são encontrados valores bem mais altos para a freqüência espacial preferida: 3,4 ciclos/grau em De Valois *et al.*, (1982b) e 2,02 ciclos/grau em Foster *et al.*, (1985). Já em camundongos os valores são de 0,03 e 0,04 ciclos/grau nos respectivos trabalhos de Niell e Stryker (2008) e Vreysen *et al.*, (2012). O valor encontrado na coruja suindara se aproxima daqueles encontrados em gatos: 0,8 ciclos/grau (Movshon *et al.*, 1978).

Quanto à largura de banda, medida local de seletividade, Pinto e Baron, (2009) observaram que as larguras de banda encontradas em mamíferos variam muito pouco e que a faixa observada nas corujas buraqueiras se assemelha aquelas obtidas nesse grupo. Concluem, portanto, que provavelmente ambos possuem os mesmos mecanismos de filtragem na via retina-tálamo-wulst/córtex. E tal hipótese pode ser, portanto, extensiva à coruja suindara.

A inseparabilidade espaço temporal observada aqui com a mudança da FE preferida ótima ao longo do tempo para algumas células também foi observada no córtex visual primário de macacos (Bredfeldt e Ringach, 2002. Mazer *et al.*, 2002), gatos (Frazor *et al.*, 2004, Nishimoto *et al.*, 2005), e em camundongos (Vreysen *et al.*, 2012). Além disso, na coruja-buraqueira (Pinto e Baron, 2010) essa mudança também foi descrita no wulst. Assim esse processamento de estímulos grosseiros e depois os mais finos, mais detalhados (*coarse-to-fine processing*) parece ser comum aos dois grupos em questão.

Com relação à seletividade à FE, em camundongos também não há alteração da mesma (Vreysen *et al.*, 2012). Por outro lado, tanto em macacos quanto nas corujas buraqueiras a seletividade aumenta em função do tempo (Bredfeldt e Ringach, 2002; Pinto e Baron, 2010) e a supressão a baixas frequências parece ter um papel importante nesse processo.

O que se observa nas corujas suindaras é que provavelmente a emergência da seletividade está ligada a processos talâmicos uma vez que não há alteração da mesma em função do tempo e, além disso, a ocorrência do processamento inicial de estímulos grosseiros e posteriormente dos mais refinados corroboram tal hipótese. Mazer *et al.*, (2002) e Frazor *et al.*, (2004) ressaltam que esse tipo de processamento está atrelado à convergência das entradas das duas vias magnocelular e parvocelular do NGL nos neurônios corticais. A via magnocelular possui neurônios sensíveis a baixas frequências espaciais e com menores latências, por sua vez, de forma oposta, a parvocelular possui neurônios sensíveis a frequências mais altas e latências de resposta mais longas. Além disso, Allen e Freeman (2006) reportaram que a dinâmica temporal encontrada no córtex visual primário é proveniente do NGL, uma vez que o mesmo apresenta as mesmas características como a mudança



da FE preferida de baixas frequências para altas ao longo do tempo. Ademais, Pettigrew (1979) relatou a presença de duas classes funcionais (X e Y) no NGL da coruja suindara, com propriedades semelhantes às encontradas em gatos, o que nos faz inferir que tal convergência das duas vias também ocorra no wulst.

Além disso, no wulst visual a emergência da seletividade à frequência espacial parece ser influenciada também por processos inibitórios intra-wulst. Pinto e Baron (2010) apontaram também tal hipótese e de forma semelhante aos nossos resultados, encontraram uma inibição a baixas frequências espaciais. Bredfeldt e Ringach (2002) também descreveram esse mesmo processo, observando a importância de inibição a estímulos não-otimais (Ringach *et al.*, 2002b; Xing *et al.*, 2004).

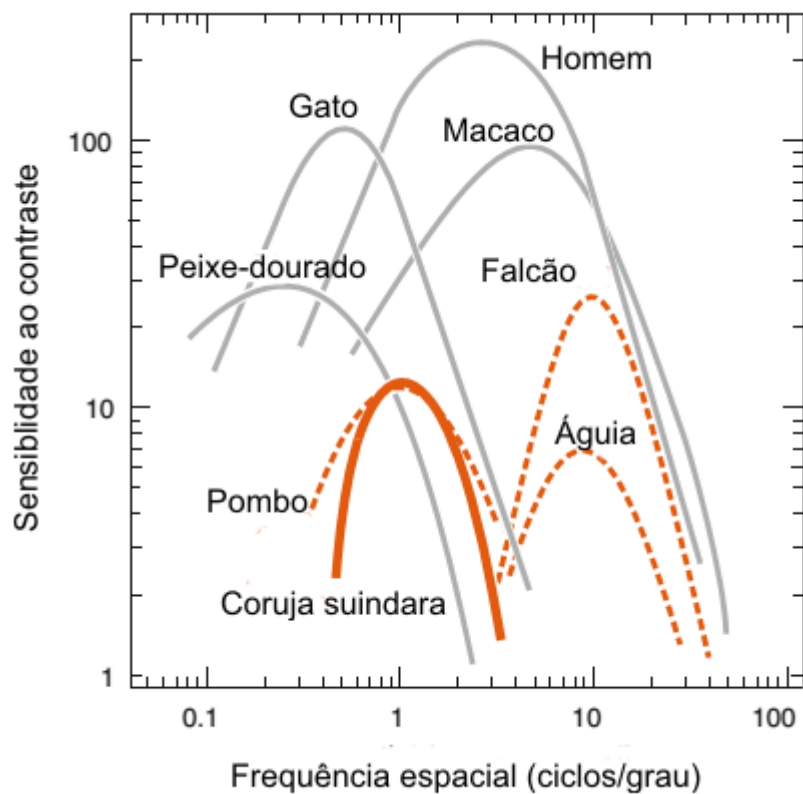
### **5.3.3. Consequência funcional**

Interessante ressaltar que a diferença de valores encontrados para a frequência espacial preferida entre as duas espécies de corujas provavelmente se deve a diferentes pressões adaptativas sofridas por ambas as espécies. A coruja buraqueira é uma espécie primordialmente diurna (Columbe, 1971) ao contrário da coruja suindara e, portanto, seu processamento visual em alguns aspectos difere das demais corujas. Pinto e Baron (2009) assumem hipoteticamente uma acuidade visual de 25 ciclos/grau para a coruja buraqueira, colocando-a muito acima das demais corujas em termos de acuidade visual. De fato, os valores de acuidade visual encontrados para as corujas suindaras se encontram entre 2,6 a 8,4 ciclos/grau (7,9 - 8,4 ciclos/grau estimado a partir da densidade máxima ganglionar; 6,9 ciclos/grau por eletroretinograma; 2,6 - 4 ciclos/grau por medições psicofísicas; Wathey e Pettigrew 1989, Ghim e Hodos 2006, Harmening *et al.*, 2009, respectivamente).

Além de possuir uma baixa acuidade visual, as corujas suindaras possuem uma baixa sensibilidade ao contraste, comparativamente com outros animais, mas tem sua curva da função de sensibilidade ao contraste, deslocada em direção as baixas frequências espaciais (figura 5.10) (Orlowski *et al.*, 2012; Harmening *et al.*, 2009). Nossos resultados, portanto, fornecem um possível substrato neural para tais características, uma vez que somente considerações sobre a óptica desse animal não explicam as mesmas. Ao contrário, como já descrito, as corujas suindaras possuem uma boa óptica, com

baixas aberrações de alta-ordem. Ter uma boa óptica produz menos deteriorização da imagem, como brilhos intensos, imagens “fantasmagóricas” ou borrões e aumenta o contraste da imagem quando pouca luz é disponível no ambiente (Harmening e Wagner, 2011).

Assim, as corujas suindaras possuem um sistema visual que é capaz de maximizar a sensibilidade à pouca luz disponível no ambiente em que vivem (mesópicos-escotópicos) apesar de haver um prejuízo da resolução espacial fina.



**Figura 5.10.** Função de sensibilidade ao contraste em diferentes espécies. As aves apresentam curvas mais estreitas que os demais animais e as corujas em especial tem sua curva deslocada para as baixas frequências espaciais. Adaptado de Harmening e Wagner, 2011.

# **Capítulo 6**

## **Separabilidade interdimensional**

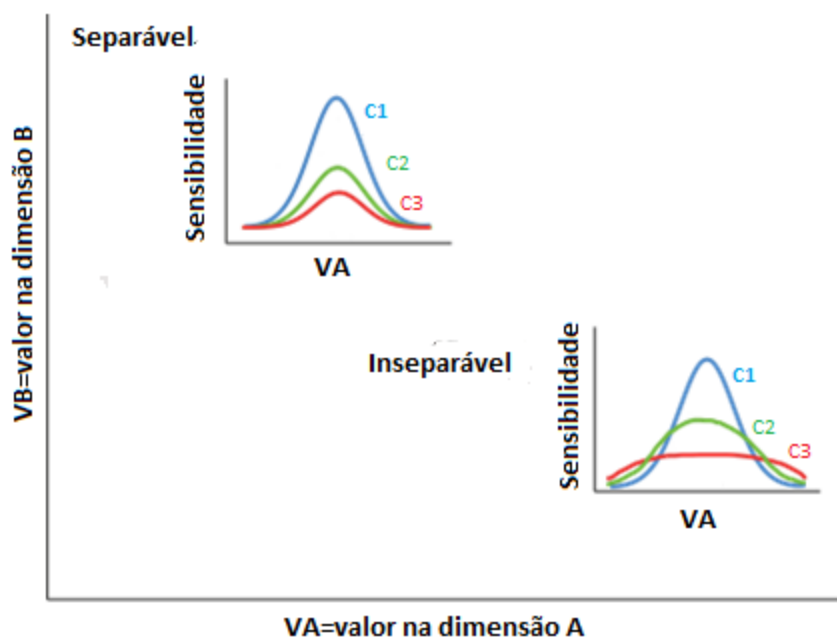
---

---

## 6. 1. Introdução

Teoricamente, a habilidade de fazer julgamentos precisos sobre a orientação de contornos é um passo importante para o reconhecimento e segmentação de objetos que compõem uma cena visual. Preservar essa capacidade independentemente de outro atributo de uma cena visual como, por exemplo, o nível de contraste, é supostamente vantajoso em diversas situações comportamentais, especialmente para um predador principalmente noturno e crepuscular. No entanto, os diversos trabalhos psicofísicos que avaliam a discriminação da orientação em função do contraste em mamíferos, por exemplo, são controversos. Em alguns estudos a discriminação melhora, ou seja, o limiar diminui ao aumentar o contraste (Regan e Beverley, 1985; Reisbeck e Gegenfurtner, 1998). Já em outros estudos os limiares de discriminação são invariantes ao contraste (Bowne, 1990; Skottun *et al.*, 1987). Nasanen *et al.*, (1997) e Mareschal e Shapley (2004) no entanto, demonstram que na verdade a capacidade de discriminação é dependente da interação entre dois fatores: o contraste e o tamanho do estímulo. Em geral, os limiares de discriminação à orientação são elevados a baixo contraste para estímulos pequenos, mas se tornam independentes do contraste quando o tamanho do estímulo é substancialmente aumentado. Ainda segundo Nasanen *et al.*, (1997) a discriminação à orientação não se altera ao ser avaliada em dois níveis de frequência espacial (2 e 8 ciclos/graus), sendo portanto, invariante.

Assim, diversos estudos psicofísicos e eletrofisiológicos tem sido conduzidos ao longo dos anos a fim de verificar essa separabilidade interdimensional. Essa separabilidade consiste na independência da sensibilidade do neurônio aos valores de uma dimensão em relação aos valores de outra dimensão avaliada, figura 6.1 (Graham, 1989). Dessa maneira, a sensibilidade às duas dimensões pode ser expressa como o produto das sensibilidades a cada dimensão separadamente. Quando a sensibilidade de um neurônio ao longo de duas dimensões é separável, ou seja, uma é independente da outra, a largura de banda da sensibilidade a uma dimensão A não se altera em função da dimensão B, como representado na figura 6.1. Por outro lado, se há inseparabilidade, a sensibilidade do neurônio é influenciada pela outra dimensão e as larguras de banda, por exemplo, não se mantêm constantes.



**Figura 6.1.** Sensibilidade de dois neurônios a duas diferentes dimensões. Na parte superior da figura é representado um neurônio que apresenta separabilidade entre as duas dimensões. A sensibilidade em A não se altera em função dos valores de B. Já na parte inferior, a sensibilidade é alterada (as curvas se tornam mais largas) e portanto, há uma inseparabilidade. Como exemplo, poderia ser a relação entre a orientação (valor na dimensão A) e diferentes níveis de contraste (valor na dimensão B, c1, c2,c3). Adaptado de Graham, 1989.

Diante do exposto, a relação entre a seletividade neuronal à orientação tem sido avaliada eletrofisiologicamente em função de outros atributos da cena visual. Com relação ao contraste, essa relação entre os dois atributos já foi avaliada no córtex visual primário de gatos (Sclar & Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987, Ferster e Miller, 2000; Anderson *et al.*, 2000; Finn *et al.*, 2007), macacos (Carandini *et al.*, 1997; Shapley *et al.*, 2002; Nowak e Barone, 2009), esquilos (Van Hooser *et al.*, 2005), furões (Allito e Usrey, 2004). E também foi avaliada no wulst visual de corujas buraqueiras (Amorim, 2011). A maioria dos trabalhos apresenta uma separabilidade entre a orientação e o contraste. Entretanto, estudos mais descritivos em primatas, por exemplo, apontam que essa separabilidade poderia não ocorrer no córtex visual primário, sendo originária de efeitos adaptativos obtidos por estimulações prolongadas (4s) (Shapley *et al.*, 2002; Nowak e Barone 2009). Portanto, as generalizações para todas as espécies estudadas devem ser feitas com cautela.

Ademais, a seletividade à orientação se altera em função do tamanho do estímulo utilizado. Nos experimentos em que estímulos eram duas a quatro vezes maiores que o tamanho do campo receptivo clássico (CRC) mostraram

uma diminuição da largura da curva de seletividade (um aumento na seletividade à orientação) quando comparados a estímulos confinados no CRC (Chen *et al.*, 2005; Xing *et al.*, 2005, Okamoto *et al.*, 2009).

Já com relação à separabilidade entre a orientação e a frequência espacial, alguns estudos não dão suporte para mesma, demonstrando que a largura de banda se altera em função do aumento da frequência (Vidyasagar e Siguenza, 1985; Hammond e Pomfrett, 1990). Entretanto, Webster e DeValois (1985) e Mazer *et al.*, (2002) apresentaram dados que, a princípio, corroboram com a separabilidade entre o dois atributos.

A questão da separabilidade é importante porque essa relação entre dois atributos de uma cena pode trazer informações a respeito do perfil do campo receptivo da célula e dos mecanismos envolvidos na emergência desses atributos no córtex visual primário. Os modelos hierárquicos relacionados à emergência da seletividade à orientação, por exemplo, predizem que a largura de banda da seletividade à orientação deveria diminuir em função do aumento da frequência espacial (Troyer *et al.*, 1998; Ferster e Miller, 2000), já outros modelos predizem a separabilidade (Geisler e Albrecht, 1997). Além disso, o estudo da separabilidade é interessante para a compreensão dos mecanismos de decodificação de atributos de uma cena visual. Se há separabilidade entre dois atributos, os neurônios de uma população podem extrair um atributo (por exemplo, orientação), sem que esse se altere, apenas fazendo a média da resposta ao outro atributo (por exemplo, frequência espacial). Por outro lado, a inseparabilidade pode propiciar a emergência de outros atributos complexos. Exemplo disso é a emergência da seletividade à velocidade do estímulo que emerge da inseparabilidade entre as frequências espacial e temporal. Assim, a separabilidade entre os diversos atributos permite uma forma de estimar e compreender como os neurônios integram e decodificam vários atributos conjuntamente.

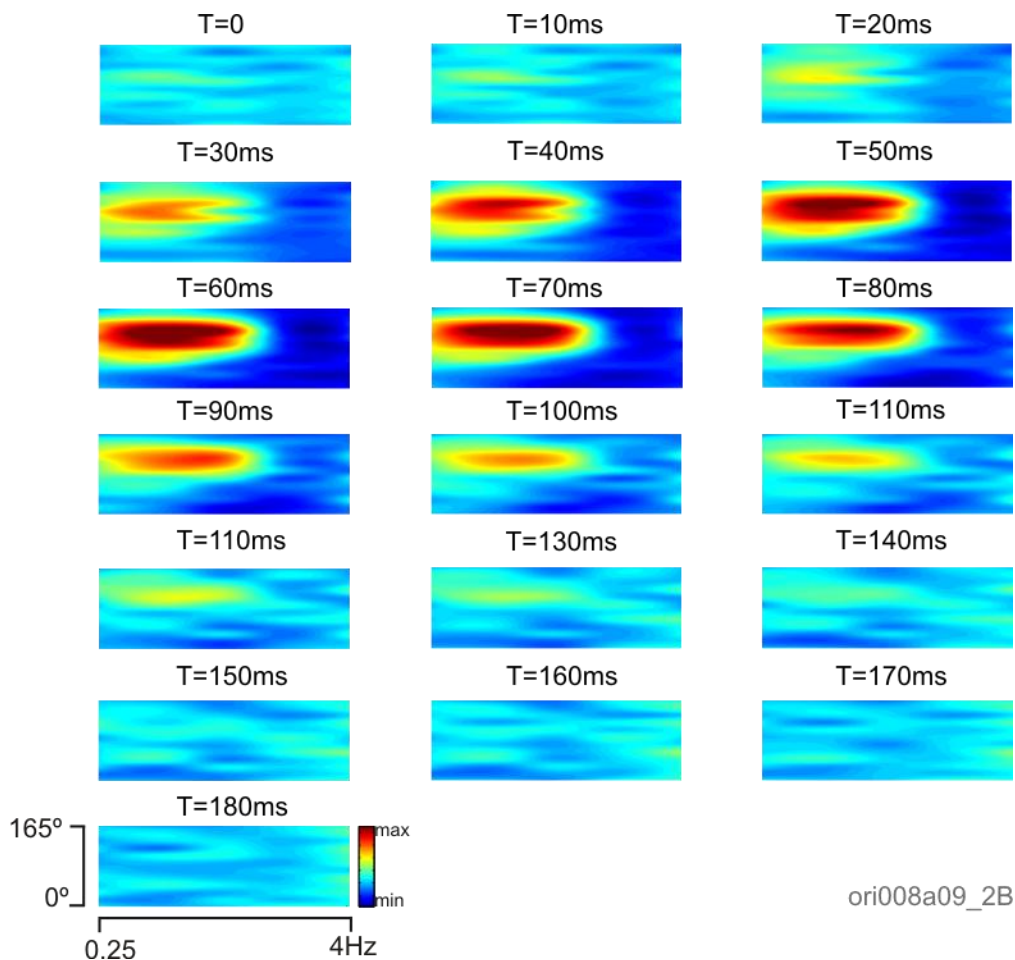
Não há ainda estudos descritos na literatura que investiguem a relação entre a orientação e a frequência espacial no sistema visual de nenhuma ave, e, portanto, o presente capítulo busca trazer luz acerca dessa questão.

## 6.2. Resultados

### 6.2.1. Separabilidade interdimensional

A fim de verificar a separabilidade interdimensional nos neurônios do wulst visual, as 33 células dos capítulos 4 e 5 foram utilizadas. Como o estímulo utilizado constitui-se de grades senoidais variando em orientação e frequência espacial, foi possível avaliar a interferência da frequência espacial na seletividade à orientação. Na figura 6.2, observa-se que a resposta aos dois atributos aumenta ao longo do tempo e posteriormente decai, assim como observado nos capítulos anteriores. Para essa célula especificamente a resposta é máxima em torno de 60 ms, na frequência espacial de 0,5 ciclos/grau e para 120° de orientação.

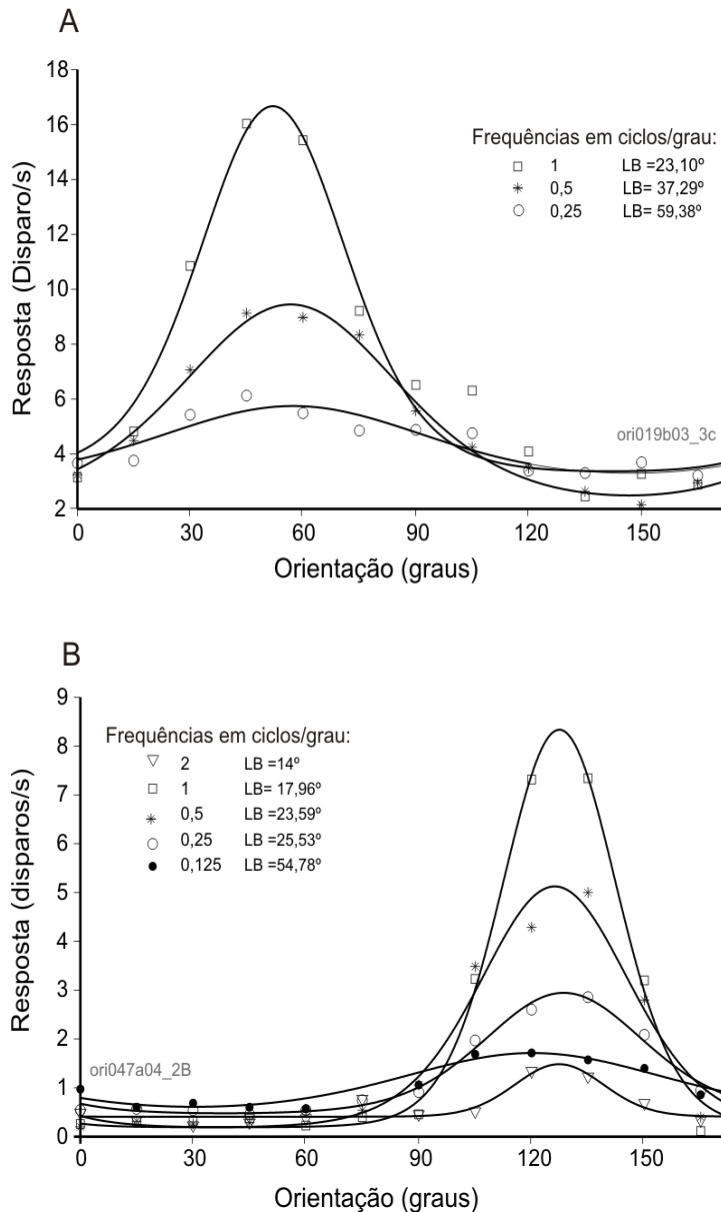
Dessa maneira, foram avaliadas na latência ótima, as curvas de orientação nas diferentes frequências espaciais apresentadas.



**Figura 6.2.** Relação entre orientação e frequência espacial. Exemplo de célula representativa da amostra. Observa-se a relação entre a resposta à diferentes orientações em diferentes frequências espaciais ao longo do tempo. Para essa célula especificamente, a separabilidade entre as duas dimensões foi analisada na latência ótima, em torno de 60ms.

As curvas foram ajustadas e os parâmetros como largura de banda (LB) e orientação preferida foram coletados. Como esperado, para aquelas freqüências muito diferente da FE preferida, as células apresentaram respostas baixas, com nenhuma ou pouca modulação para valores de FE e seletividade à orientação. Conseqüentemente, não houve um bom ajuste dessa resposta ( $R$ -square < 0,70). Tais curvas, portanto, foram retiradas das próximas análises.

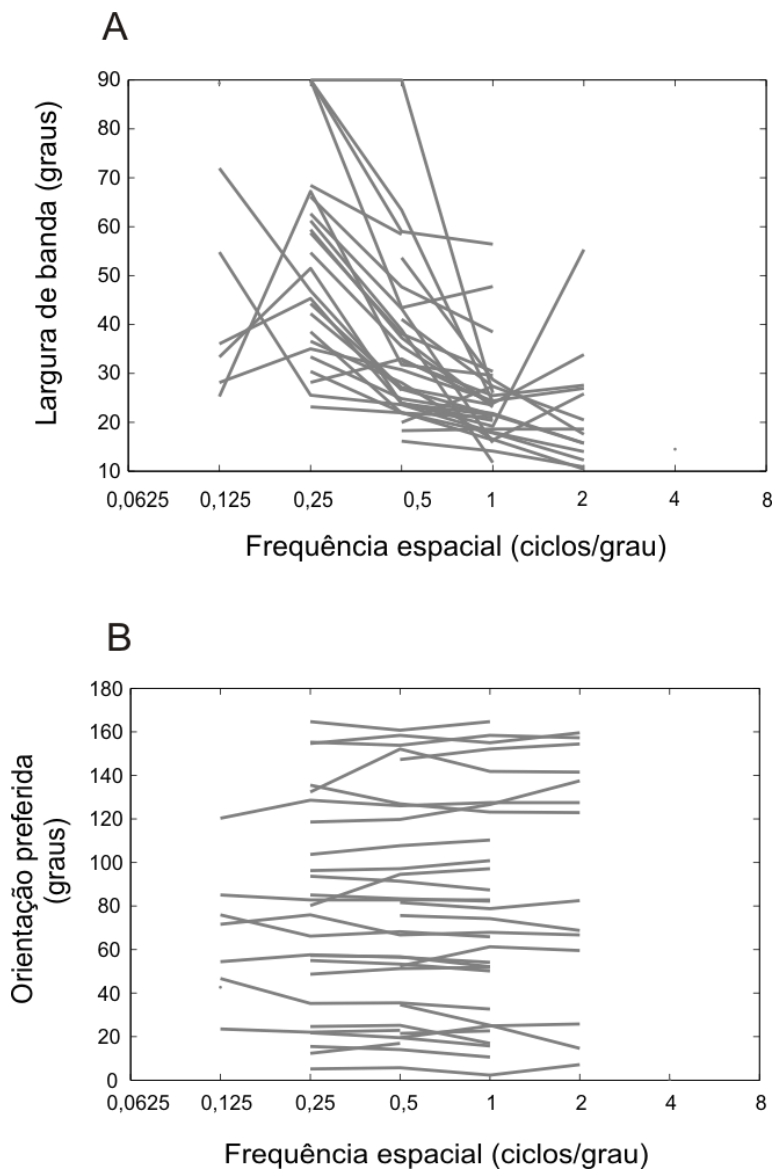
A figura 6.3 mostra dois exemplos característicos da nossa amostra. Observa-se que a largura de banda é menor nas altas freqüências quando comparado com a das baixas freqüências (ganho de 2,57 vezes para a célula A e 3,91 para a célula B). Além disso, a orientação preferida não se altera em função da freqüência espacial.



**Figura 6.3.** Variação da LB em função da freqüência espacial. A largura de banda diminui com o aumento da freqüência espacial. Por outro lado, a orientação preferida não apresenta grandes alterações. Tanto para a célula em A quanto para aquela em B, em algumas freqüências espaciais não houve um bom ajuste das curvas de seletividade à orientação, 3 e 1 curva respectivamente.

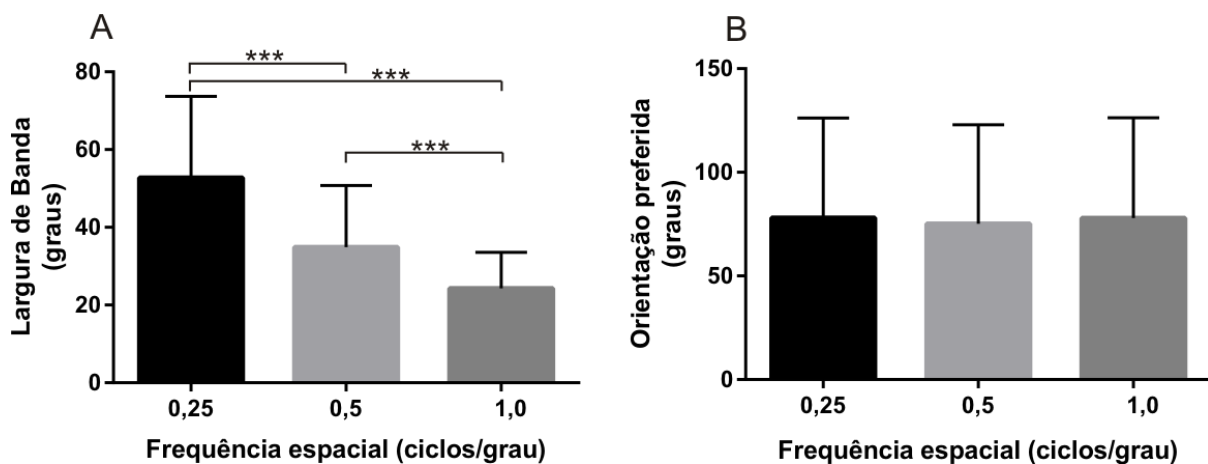


Observamos o mesmo efeito populacionalmente, como demonstrado na figura 6.4. Há uma variação na largura de banda em função da frequência espacial (figura 6.4A), porém, não observamos mudanças na orientação preferida (figura 6.4B). Essas diferenças são estatisticamente significantes para a largura de banda (Kruskalwallis,  $p < 0,001$ ) mas não o são para a orientação preferida (Kruskalwallis,  $p = 0,42$ ).



**Figura 6.4.** Relação entre a orientação e a frequência espacial a nível populacional. Em A, observa-se a grande variação da largura de banda em função da frequência espacial para a maioria das células. Em B, a mudança na frequência espacial não altera a orientação preferida para a maioria das células.  $n=29$ .

Quando os valores encontrados nas frequências de 0,25, 0,5 e 1,0 ciclos/grau foram comparados entre si por meio de um Teste-T pareado (ou Wilcoxon) encontramos que há diferenças significativas para as larguras de banda (LB: valores em 0,25 vs.0,5,  $p < 0,001$ ; valores em 0,25 vs. 1,  $p < 0,001$  e valores em 0,5 vs 1,0,  $p < 0,001$  (Wilcoxon)), mas não há para a orientação preferida (Orientação: valores em 0,25 vs.0,5,  $p = 0,54$ ; valores em 0,25 vs. 1,0,  $p = 0,61$  e valores em 0,5 vs 1,0,  $p = 0,38$  (Teste-T)). As médias encontradas para as LB foram  $52,73^\circ$ ,  $34,93^\circ$  e  $24,28^\circ$  e para as orientações preferidas foram  $78,03^\circ$ ,  $75,14^\circ$  e  $77,98^\circ$ , respectivamente, na menor, média e alta frequência espacial, figura 6.5. Há, portanto, uma alteração na precisão da seletividade a orientação em função do aumento da frequência espacial, as células se tornaram mais seletivas.

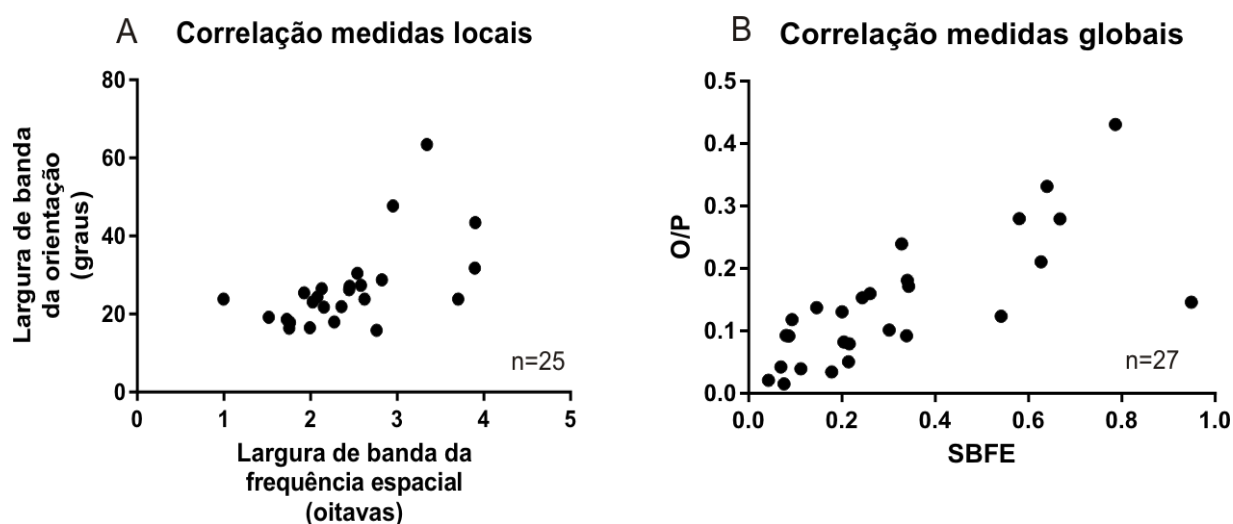


**Figura 6.5.** Análise populacional da relação entre a orientação e a frequência espacial. Em A, observa-se que a média da largura de banda diminui em função do aumento da frequência espacial em todas as comparações, e a diferença entre elas é significativa. Em B, não há alteração significativa da orientação preferida entre nenhuma das comparações das frequências espaciais.  $n=29$

### 6.2.2. Relação entre a seletividade à orientação e à frequência espacial

Foi investigada também a relação entre as medidas de seletividades dos dois atributos. Perguntamos-nos se uma vez que a seletividade à orientação bem como à frequência espacial parecem compartilhar de mecanismos similares em sua emergência no wulst, a precisão das curvas e as medidas de seletividade não estariam correlacionadas?

Diante disso, avaliamos o grau de correlação das medidas locais e globais encontradas nos capítulos 3 e 4 para ambos atributos. Uma significativa correlação foi encontrada entre a largura de banda para a orientação e para frequência,  $\rho=0,61$ ,  $p<0,01$ , Spearman. Assim, células com alta seletividade (curvas mais estreitas) para orientação, também o são para frequência espacial. Da mesma maneira, a medida O/P para orientação e a SBFE (Supressão a Baixas Frequências Espaciais) também apresentam forte e significativa correlação,  $\rho=0,79$ ,  $p<0,001$ , Spearman, figura 6.6. Isso indica que os processos neuronais relacionados à inibição a respostas a estímulos não-otimais são os mesmos para a seletividade à orientação e à frequência espacial.



**Figura 6.6.** Correlação entre as medidas de seletividade à orientação e à frequência espacial. A) Medidas locais. As larguras de banda das curvas de orientação e frequência apresentam forte e significativa correlação ( $\rho=0,61$ ). B) Medidas globais. As medidas O/P e SBFE também estão fortemente correlacionadas ( $\rho=0,79$ ). Há um indicativo, portanto, de que mecanismos neuronais similares atuam na emergência da seletividade de ambos os atributos.

### **6.3. Discussão**

#### **6.3.1. Síntese dos resultados e comparação com estudos prévios no córtex visual primário**

A orientação e a frequência espacial são dimensões fundamentais para a análise da forma e os neurocientistas da visão tem investigado a relação entre ambas ao longo dos anos. Philips e Wilson (1984), por exemplo, mostraram por meio de testes psicofísicos em humanos, que as larguras de banda para a orientação diminuem ao aumentar a frequência espacial. Esses achados foram corroborados pelos registros eletrofisiológicos obtidos em gatos por Vidyasagar e Siguenza, (1985) e por Hammond e Pomfrett, (1990), em que a largura de banda da orientação diminuía em função do aumento da frequência espacial, assim como os resultados encontrados nos neurônios do wulst visual. Na coruja suindara, as larguras de banda, quando comparadas às frequências de 0,25 e 1,0 ciclos/grau, apresentam um ganho de, em média, 2,23 vezes.

Esses dados dão suporte para o modelo proposto por Troyer *et al.*, 1998 e revisto por Ferster e Miller, 2000. O mesmo prevê que a largura de banda da orientação diminui com o aumento da frequência, o que corrobora a idéia de que a curva de orientação é essencialmente dirigida por entradas excitatórias provenientes do núcleo geniculado lateral (NGL). Isso se deve a observação de que os neurônios do NGL em baixas frequências espaciais apresentam pouca seletividade à orientação e a mesma aumenta com o aumento da frequência espacial (Vidyasagar e Heide, 1984, Xu *et al.*, 2002).

Por outro lado, Webster e DeValois, 1985 e Mazer *et al.*, 2002, descreveram em gato e macaco respectivamente, uma separabilidade das duas dimensões. No entanto, convém ressaltar que o primeiro estudo analisa de forma mais descritiva apenas a orientação preferida em função da frequência espacial. Esse parâmetro, portanto, não se altera significativamente em função da frequência espacial. Não há uma análise acerca da largura de banda. Se em nosso estudo apenas esse parâmetro fosse considerado, a conclusão em direção da separabilidade seria igualmente inevitável. Mazer *et al.*, (2002) utilizando uma metodologia diferente, a da decomposição em valores singulares, concluiu que as duas dimensões são grandemente separáveis, porém, deixaram claro que tal fenômeno não ocorre em todos os

neurônios analisados e portanto há inseparabilidade no córtex visual primário. Essa inseparabilidade por eles observada é também caracterizada pela diminuição da largura de banda das curvas de orientação em função do aumento da frequência espacial. Assim, a discrepância nos resultados descritos poderia ser devido a uma diferença na metodologia empregada para análise dos dados.

A correlação entre as medidas de seletividade das duas dimensões obtida em nossos resultados também foi encontrada de forma similar em macacos (DeValois *et al.*, 1982; Xing *et al.* 2004; Zhu *et al.*, 2010). DeValois *et al.* (1982) encontrou uma correlação significativa entre as larguras de banda de 0,5. Xing *et al.* (2004) descreveu uma correlação de 0,77 para medidas globais e 0,46 para medidas locais e Zhu *et al.* (2010) encontrou uma correlação para medidas globais de 0,81. O modelo proposto por Zhu *et al.*, 2010 se propõe a explicar essa relação entre as duas dimensões e concluíram que a inibição intracortical é o mecanismo comum para explicar essa a relação entre elas. Pelo modelo, a correlação entre as duas dimensões é muito fraca quando somente as entradas provenientes do NGL são consideradas ( $\rho=0,27$ ), porém, o padrão de correlação do modelo para as células simples ( $\rho=0,59$ ) se assemelha muito aos dados experimentais obtidos no artigo como nos estudos anteriores. Segundo o modelo, uma inibição cortico-cortical seria necessária para explicar essa correlação bem como também para prover a alta seletividade para ambas dimensões no córtex visual primário.

Diante do exposto, e somados aos dados apresentados nos capítulos anteriores, os resultados encontrados corroboram a hipótese de que a seletividade à orientação e à frequência espacial no wulst visual das corujas suindaras, bem como a relação entre elas, são conduzidas por processos de integração das entradas provenientes do tálamo e provavelmente uma inibição oriunda intra-wulst também contribui significativamente para emergência dessas seletividades.

# **Capítulo 7**

## **Discussão Geral**

---

---

## **7.1. Discussão Geral**

### **7.1.1. Síntese dos resultados**

O sistema visual da coruja suindara vem sendo alvo de vários estudos ao longo dos anos. Seja por meio da anatomia, histologia, oftalmologia, passando pela área comportamental aliada aos testes psicofísicos e pela eletrofisiologia, esse sistema vem sendo escrutinado ao longo dos anos. No entanto, especificamente com relação ao wulst, área telencefálica que recebe a maior parte das projeções retino-talâmicas, poucos trabalhos foram realizados (Pettigrew e Konishi, 1976, Pettigrew, 1979, Wagner e Frost, 1994, Nieder e Wagner, 1999, Liu e Pettigrew, 2003). Assim, o presente estudo contribui de alguma forma para a construção do conhecimento a cerca desse sistema. Os principais achados podem ser resumidos da seguinte forma: 1) a maioria dos neurônios do wulst é seletiva para a orientação e frequência espacial, sendo estas bem heterogêneas, e emergindo rapidamente; 2) há uma inseparabilidade entre as duas dimensões; 3) essas seletividades emergem devido a processos talâmicos excitatórios, e, além disso, há indícios de mecanismos inibitórios intra-wulst, especialmente relacionados a estímulos não-otimais.

### **7.1.2. Perspectivas**

Importante salientar que muitas conclusões do presente estudo tem como premissa o fato de as células no núcleo geniculado lateral (NGL) da coruja suindara serem descritas como semelhantes às células do NGL de mamíferos, mais especificamente de gatos (células x e y). Pettigrew e Konishi, (1976) e Pettigrew, (1979) descreveram qualitativamente as células do NGL da coruja suindara, como neurônios com campos receptivos organizados concentricamente (com centros ON e OFF). Além disso, as células x tem campos receptivos menores, resposta sustentada em relação às células y, e respondem melhor para baixas frequências temporais e altas frequências espaciais. As células y, por sua vez, tem campos receptivos maiores, respostas transientes, respondem melhor para altas frequências temporais e baixas frequências espaciais, e além disso tem respostas com latências menores e morfologicamente são células maiores que as células x (Derrington e Fuchs,

1979; Pettigrew, 1979; Sherman e Guillery, 2004). Diante disso, seria interessante investigar de forma mais criteriosa e quantitativa as características dos neurônios do núcleo geniculado lateral da coruja suindara, especialmente aquelas relacionadas à seletividade à orientação e à frequência espacial para melhor compreensão desses sinais que aportam no wulst visual.

Além disso, no presente estudo não foi realizado um controle rigoroso dos locais de registro. A confirmação dos sítios de registro por meio histológico seria importante para averiguar posteriormente em quais camadas do wulst foram encontradas as células registradas. Assim, uma relação entre as aferências talâmicas e a seletividade à orientação e à frequência espacial poderia ser feita, o que conseqüentemente melhora o entendimento sobre os processos de emergência dessa seletividade.

Shimizu e Karten, (1990), descreveram a presença de receptor GABA<sub>A</sub> no wulst visual de pombos. Isso reforça a idéia de que são necessários mais trabalhos caracterizando eletrofisiologicamente os mecanismos de inibição presentes no wulst, porque de fato, há substrato neural para tais mecanismos. Tomados todos esses dados em conjunto, e numa perspectiva em longo prazo, seria interessante a proposição de um modelo de emergência da seletividade à orientação e frequência espacial, bem como da relação entre ambas dimensões no wulst visual.

### **7.1.3. Conclusão**

Concluindo, entende-se que o presente estudo abre um caminho para a compreensão da emergência à seletividade à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara, mas tem-se claro que ainda resta muito a investigar sobre os substratos neurais relacionados a essa emergência.

O estudo do sistema visual da coruja suindara pode proporcionar plataformas ideais para o estudo dos problemas fundamentais da neurociência. Na verdade, as peculiaridades do sistema nervoso e todas as adaptações do sistema visual da coruja suindara, que evoluíram e possibilitaram a realização de tarefas específicas em nichos ecológicos únicos, permitem não só colocar questões científicas específicas, mas também descobrir princípios que são gerais para todos os sistemas nervosos.



# **Capítulo 8**

## **Referências Bibliográficas**

---

---

## 8. Referências Bibliográficas:

Alitto, H.J. & Usrey, W.M. (2004) Influence of contrast on orientation and temporal frequency tuning in ferret primary visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 91, 2797-2808

Allen, E. A., & Freeman, R. D. (2006). Dynamic spatial processing originates in early visual pathways. *The Journal of neuroscience*, 26(45), 11763-11774.

Anderson, J.S., Lampl, I., Gillespie, D.C. & Ferster, D. (2000) The contribution of noise to contrast invariance of orientation tuning in cat visual cortex. *Science*, 290, 1968-1972.

Amorim, C. (2011). Invariância ao contraste no wulst visual da coruja-buraqueira, *Athene cunicularia*. Dissertação de Mestrado

Appelle S. (1972). Perception and discrimination as a function of stimulus orientation: the "oblique effect" in man and animals. *Psychol Bull* 78: 266–278.

Bachmann T, Klain S, Baumgartner W, Klaas M, Schroeder W, Wagner H (2007) Morphometric characterisation of wing feathers of the barn owl *Tyto alba pratincola* and the pigeon *Columba livia*. *Front Zool* 4:1–15

Barlow, H.B., Blakemore, C. & Pettigrew, J.D. (1967) Neural Mechanism of Binocular Depth Discrimination. *Journal of Physiology-London*, 193, 327-342.

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, 1950-1968.

Ben-Yishai, R., Baror, R.L. & Sompolinsky, H. (1995) Theory of Orientation Tuning in Visual-Cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 3844-3848.

Blakemore, C. T., & Campbell, F. W. (1969). On the existence of neurones in the human visual system selectively sensitive to the orientation and size of retinal images. *The Journal of physiology*, 203(1), 237.

Bowne, S. F. (1990). Contrast discrimination cannot explain spatial frequency, orientation or temporal frequency discrimination. *Vision Research*, 30, 449–461

Bredfeldt, C. E., & Ringach, D. L. (2002). Dynamics of spatial frequency tuning in macaque V1. *The Journal of Neuroscience*, 22(5), 1976-1984.

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

Bullier J, & Henry GH. (1979). Laminar distribution of first-order neurons and afferent terminals in cat striate cortex. *Journal of Neurophysiology*,42, 1271–1281

Campbell, F. W., Cooper, G. F., & Enroth-Cugell, C. (1969). The spatial selectivity of the visual cells of the cat. *The Journal of Physiology*, 203(1), 223.

Carandini,M. (2007) Melting the iceberg: Contrast invariance in visual cortex. *Neuron*, 54, 11-13.

Celebrini, S., Thorpe, S., Trotter, Y., and Imbert, M. (1993). Dynamics of orientation coding in area V1 of the awake primate. *Vis. Neurosci.*10, 811–825.

Chapman,B., Zahs,K.R. & Stryker,M.P. (1991) Relation of Cortical Cell Orientation Selectivity to Alignment of Receptive-Fields of the Geniculocortical Afferents That Arborize Within A Single Orientation Column in Ferret Visual-Cortex. *Journal of Neuroscience*, 11, 1347-1358.

Chen, G., Dan, Y. & Li, C.Y. (2005) Stimulation of non-classical receptive field enhances orientation selectivity in the cat.*J. Physiol.*, 564, 233–243.

Chung,S. & Ferster,D. (1998) Strength and orientation tuning of the thalamic input to simple cells revealed by electrically evoked cortical suppression. *Neuron*, 20, 1177-1189.

Clifford, C.W., Wyatt, A.M., Arnold, D.H., Smith, S.T., Wenderoth, P. (2001). Orthogonal adaptation improves orientation discrimination. *Vision Research*. 41, 151-159.

Dalgalarrondo, P. (2009). *A Evolução do Cérebro*. Artmed Editora.

Deneve, S., Latham, P.E., and Pouget, A. (1999). Reading population codes: a neural implementation of ideal observers. *Nat. Neurosc* 2, 740–745.

De Valois RL, Yund EW, and Hepler N. (1982). The orientation and direction selectivity of cells in macaque visual cortex. *Vision Res* 22: 531–544.

De Valois, R. L., Albrecht, D. G., & Thorell, L. G. (1982b). Spatial frequency selectivity of cells in macaque visual cortex. *Vision research*, 22(5), 545-559.

Dice LR (1945) Minimum intensities of illumination under which owls can find dead prey by sight. *Am Nat* 79:385–416

Derrington, A. M., and A. F. Fuchs. "Spatial and temporal properties of X and Y cells in the cat lateral geniculate nucleus." *The Journal of physiology* 293 (1979): 347.

Douglas,R.J., Koch,C., Mahowald,M., Martin,K.A.C. & Suarez,H.H. (1995) Recurrent Excitation in Neocortical Circuits. *Science*, 269, 981-985.

Donis, F. J. (1999). The oblique effect in pigeons (*Columba livia*). *Journal of Comparative Psychology*, 113(2), 107.

Felsen G., Shen Y.S., Yao H., Spor G., Li C., Dan Y. (2002) Dynamic modification of cortical orientation tuning mediated by recurrent connections. *Neuron*, 36, 945-954.

Ferster D, Lindstrom S. (1983) An intracellular analysis of geniculocortical connectivity in area 17 of the cat. *Journal of Physiology*, 342,181–215

Ferster,D., Chung,S. & Wheat,H. (1996) Orientation selectivity of thalamic input to simple cells of cat visual cortex. *Nature*, 380, 249-252.

Ferster,D., Miller,K.D. (2000) Neural mechanisms of orientation selectivity in the visual cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 441-471.

Finn,I.M., Priebe,N.J. & Ferster,D. (2007) The emergence of contrast-invariant orientation tuning in simple cells of cat visual cortex. *Neuron*, 54, 137-152.

Foster, K. H., Gaska, J. P., Nagler, M., & Pollen, D. A. (1985). Spatial and temporal frequency selectivity of neurones in visual cortical areas V1 and V2 of the macaque monkey. *The Journal of physiology*, 365(1), 331-363.

Frazor, R. A., Albrecht, D. G., Geisler, W. S., & Crane, A. M. (2004). Visual cortex neurons of monkeys and cats: temporal dynamics of the spatial frequency response function. *Journal of Neurophysiology*, 91(6), 2607-2627.

Gegenfurtner KR, Kiper DC, Fenstemaker SB (1996) Processing of color, form and motion in macaque V2. *Vis Neurosci* 13:161–172.

Geisler, W. S., & Albrecht, D. G. (1997). Visual cortex neurons in monkeys and cats: detection, discrimination, and identification. *Visual neuroscience*,14(05), 897-919.

Gibson, J.J., Radner, M. (1937). Adaptation, after-effect and contrast in the perception of tilted lines. I Quantitative studies. J. evaluation of the mechanisms underlying simple cell orientation *Exp. Psychol.*20, 453–467

Gilbert, C.D., e Wiesel, T.N. (1990). The influence of contextual stimuli on the orientation selectivity of cells in primary visual cortex of the cat. *Vision Res.* 30, 1689–1701.

Gillespie, D. C., Lampl, I., Anderson, J. S., and Ferster, D. (2001) Dynamics of the orientation-tuned membrane potential response in cat primary visual cortex. *Nature Neuroscience*, 4, 1014–1019.

Ghim, M.M. & Hodos, W. (2006) Spatial contrast sensitivity of birds. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 192, 523-534.

Girardin, C. C. and Martin, K.A.C. (2009). Cooling in cat visual cortex: stability of orientation selectivity despite changes in responsiveness and spike width, *Neuroscience*, 164: 777-787.

Graham, N. (1989). *Visual Pattern Analyzers Oxford Psychology Series No. 16*. New York: Oxford University Press.

Hammond, P., Pomfrett, C.J. (1990). Influence of spatial frequency on tuning and bias for orientation and direction in the cat's striate cortex. *Vision Res.* 30, 359-69.

Hammond, P., & Pomfrett, C. J. D. (1990). Influence of spatial frequency on tuning and bias for orientation and direction in the cat's striate cortex. *Vision research*, 30(3), 359-369.

Harmening WM, Vobig MA, Walter P, Wagner H (2007) Ocular aberrations in barn owl eyes. *Vision Res* 47:2934–2942

Harmening WM, Nikolay P, Orłowski J, Wagner H (2009) Spatial contrast sensitivity and grating acuity of barn owls. *J Vision* 9:1–12

Harmening, W. M., & Wagner, H. (2011). From optics to attention: visual perception in barn owls. *Journal of Comparative Physiology A*, 197(11), 1031-1042.

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.

Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1962) Receptive Fields, Binocular Interaction and Functional Architecture in Cats Visual Cortex. *Journal of Physiology-London*, 160, 106-154.

Hubel DH & Wiesel TN (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *JPhysiol* 195, 215–243.

Iwaniuk, A.N. & Hurd, P.L. (2005) The evolution of cerebrotypes in birds. *Brain Behav. Evol.*, 65, 215-230.

Iwaniuk, A.N. & Wylie, D.R. (2006) The evolution of stereopsis and the Wulst in caprimulgidiform birds: A comparative analysis. *J. Comp Physiol A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol*, 192, 1313-1326.

Iwaniuk, A.N., Heesy, C.P., Hall, M.I. & Wylie, D.R.W. (2008) Relative Wulst volume is correlated with orbit orientation and binocular visual field in birds.

Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology, 194 , 267-282.

Jacobs GH, Birch DG, and Blakeslee B. (1982), Visual acuity and spatial contrast sensitivity in tree squirrels. Behav Proc 7: 367–375.

Jastrow J.(1893). On the judgement of angles and positions of lines. J Psychol 5:214–248.

Jin,J.Z., Weng,C., Yeh,C.I., Gordon,J.A., Ruthazer,E.S., Stryker,M.P., Swadlow,H.A. & Alonso,J.M. (2008) On and off domains of geniculate afferents in cat primary visual cortex. Nature Neuroscience, 11, 88-94.

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.

Karten, H. J. (2015). Vertebrate brains and evolutionary connectomics: on the origins of the mammalian 'neocortex'. Phil. Trans. R. Soc. B, 370(1684),

Knudsen EI (2002) Instructed learning in the auditory localization pathway of the barn owl. Nature 417:322–328

Knudsen EI (2007) Fundamental Components of Attention. Annu Rev Neurosci 6: 6.

Laughlin SB. (2001). Energy as a constraint on the coding and processing of sensory information. Curr Opin Neurobiol11: 475– 480.

Lauritzen,T.Z. & Miller,K.D. (2003) Different roles for simple-cell and complex-cell inhibition in V1. Journal of Neuroscience, 23, 10201-10213.

Li B, Peterson MR, Freeman RD. (2003)Oblique effect: a neural basis in the visual cortex. J Neurophysiol. 90, 204-17.

Liu,G.B. & Pettigrew,J.D. (2003) Orientation mosaic in barn owl's visual Wulst revealed by optical imaging: comparison with cat and monkey striate and extra-striate areas. Brain Research, 961, 153-158.

Mareschal,I. & Shapley,R.M. (2004) Effects of contrast and size on orientation discrimination. Vision Research, 44, 57-67.

Martinez,L.M., Wang,Q.B., Reid,R.C., Pillai,C., Alonso,J.M., Sommer,F.T. & Hirsch,J.A. (2005) Receptive field structure varies with layer in the primary visual cortex. Nature Neuroscience, 8, 372-379

Mazer JA, Vinje WE, McDermott J, Schiller PH & Gallant JL. (2002). Spatial frequency and orientation tuning dynamics in area V1. *Proc Natl Acad Sci USA* 99,1645–1650.

McLaughlin, D., Shapley, R., Shelley, M., and Wielaard, J. (2000). A Neuronal Network Model of Sharpening and Dynamics of Orientation Tuning in an Input Layer of Macaque Primary Visual Cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 8087–8092.

Morrone, M.C., Burr, D.C., & Maffei, I. L.(1982). Functional implications of crossorientation inhibition of cortical visual cells. I. Neurophysiological evidence. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 216: 335–354.

Morrone, M.C., Burr, D.C., and Speed, H.D. (1987). Cross-orientation inhibition in cat is GABA mediated. *Exp. Brain Res.* 67, 635–644

Movshon, J. A., Thompson, I. D., & Tolhurst, D. J. (1978). Spatial and temporal contrast sensitivity of neurones in areas 17 and 18 of the cat's visual cortex. *The Journal of Physiology*, 283, 101.

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*, 2001,21, 6978–6990

Nasanen,R.E., Kukkonen,H.T. & Rovamo,J.M. (1997) Modeling spatial integration and contrast invariance in visual pattern discrimination. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 38, 260-266

Nelson,S., Toth,L., Sheth,B. & Sur,M. (1994) Orientation Selectivity of Cortical-Neurons During Intracellular Blockade of Inhibition. *Science*, 265, 774-777.

Nieder,A. & Wagner,H. (1999) Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. *Nature Neuroscience*, 2, 660-663.

Nieder,A. & Wagner,H. (2000) Horizontal-disparity tuning of neurons in the visual forebrain of the behaving barn owl. *Journal of Neurophysiology*, 83, 2967-2979.

Nieder,A. & Wagner,H. (2001a) Hierarchical processing of horizontal disparity information in the visual forebrain of behaving owls. *Journal of Neuroscience*, 21, 4514-4522.

Nieder,A. & Wagner,H. (2001b) Encoding of both vertical and horizontal disparity in random-dot stereograms by Wulst neurons of awake barn owls. *Visual Neuroscience*, 18, 541-547.

Niell, C. M., & Stryker, M. P. (2008). Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, 28(30), 7520-7536.

Nishimoto, S., Arai, M., Ohzawa, I. (2005). Accuracy of Subspace Mapping of Spatiotemporal Frequency Domain Visual Receptive Fields. *Journal of Neurophysiology* 93, 3524 –3536

Ng, B. S. W., Grabska-Barwińska, A., Güntürkün, O., & Jancke, D. (2010). Dominant vertical orientation processing without clustered maps: early visual brain dynamics imaged with voltage-sensitive dye in the pigeon visual Wulst. *The Journal of Neuroscience*, 30(19), 6713-6725.

Nowak, L.G., Sanchez-Vives, M.V. & McCormick, D.A. (2008) Lack of orientation and direction selectivity in a subgroup of fast-spiking inhibitory interneurons: Cellular and synaptic mechanisms and comparison with other electrophysiological cell types. *Cerebral Cortex*, 18, 1058-1078.

Okamoto, M. Naito, T., Sadakane, O., Osaki, H., Sato, H. 2009 Surround suppression sharpens orientation tuning in the cat primary visual cortex. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 29, pp. 1035–1046.

Ohayon S, Harmening WM, Wagner H, Rivlin E (2008) Through a barn owl's eyes: interactions between scene content and visual attention. *Biol Cybern* 98:115–132

Orban GA and Kennedy H. (1979). Receptive field organization in areas 17 and 18 of the cat [proceedings]. *Arch Int Physiol Biochim* 87: 766–767.

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) *J Vision*. 15(14):4. Visual\_pop-out\_in\_barn\_owls: Human-like behavior in the avian brain.

Palmer, S. E. (1999). *Vision science: Photons to phenomenology* (Vol. 1). Cambridge, MA: MIT press.

Pettigrew, J.D. & Daniels, J.D. (1973) Gamma-Aminobutyric Acid Antagonism in Visual-Cortex - Different Effects on Simple, Complex, and Hypercomplex Neurons. *Science*, 182, 81-83.

Pettigrew, J.D. & Konishi, M. (1976) Neurons Selective for Orientation and Binocular Disparity in Visual Wulst of Barn Owl (*Tyto-Alba*). *Science*, 193, 675-678.



- Pettigrew, J.D. (1979) Binocular Visual Processing in the Owls Telencephalon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 204, 435-454.
- Phillips, G. C., & Wilson, H. R. (1984). Orientation bandwidths of spatial mechanisms measured by masking. *JOSA A*, 1(2), 226-232.
- Pinto, L. & Baron, J. (2009) Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. *European Journal of Neuroscience*, 30, 1251-1268.
- Pinto, L., Baron, J. (2010) Spatiotemporal frequency tuning dynamics of neurons in the owl visual wulst. *J Neurophysiol.* 103(6):3424-36.
- Priebe, N. J., Lisberger, S. G., & Movshon, J. A. (2006). Tuning for spatiotemporal frequency and speed in directionally selective neurons of macaque striate cortex. *The Journal of Neuroscience*, 26(11), 2941-2950.
- Priebe NJ, Ferster D. (2008) Inhibition, spike threshold, and stimulus selectivity in primary visual cortex. *Neuron* 57: 482– 497.
- Prusky GT and Douglas RM. (2004), Characterization of mouse cortical spatial vision. *Vision Res* 44: 3411–3418.
- Reid, R.C. & Alonso, J.M. (1995) Specificity of Monosynaptic Connections from Thalamus to Visual-Cortex. *Nature*, 378, 281-284
- Regan, D., & Beverley, K. I. (1985). Postadaptation orientation discrimination. *Journal of the Optical Society of America*, 2, 147–155.
- Reisbeck, T. E., & Gegenfurtner, K. R. (1998). Effects of contrast and temporal frequency on orientation discrimination for luminance and isoluminant stimuli. *Vision Research*, 38, 1105–1117.
- Ringach, D.L., Hawken, M.J., and Shapley, R. (1997). Dynamics of orientation tuning in macaque primary visual cortex. *Nature* 387, 282-284.
- Ringach DL, Shapley RM, and Hawken MJ. (2002). Orientation selectivity in macaque V1: diversity and laminar dependence. *J Neurosci* 22: 5639–5651.
- Ringach DL, Bredfeldt CE, Hawken MJ, Shapley R (2002b) Suppression of neural responses to nonoptimal stimuli correlates with tuning selectivity in macaque V1. *J Neurophysiol* 87:1018–1027.
- Ringach, D.L., Hawken, M.J. & Shapley, R. (2003) Dynamics of orientation tuning in macaque V1: The role of global and tuned suppression. *Journal of Neurophysiology*, 90, 342-352.
- Rose, D. & Blakemore, C. (1974) Effects of Bicuculline on Functions of Inhibition in Visual-Cortex. *Nature*, 249, 375-377.

Sato, H., Katsuyama, N., Tamura, H., Hata, Y., and Tsumoto, T. (1996) Mechanisms underlying orientation selectivity of neurons in the primary visual cortex of macaque. *Journal of Physiology*, 494, 757-771

Sclar, G. & Freeman, R.D. (1982) Orientation Selectivity in the Cats Striate Cortex Is Invariant with Stimulus Contrast. *Experimental Brain Research*, 46, 457-461.

Schiller PH, Malpeli JG (1977) The effect of striate cortex cooling on area 18 cells in the monkey. *Brain Res* 126:366–369.

Schummers J, Cronin B, Wimmer K, Stimberg M, Martin R, Obermayer K, Koerding K, Sur M. (2007) Dynamics of orientation tuning in cat V1 neurons depend on location within layers and orientation maps. *Front Neuroscience* 1:145–159.

Shapley, R. M., Johnson, E. N., Hawken, M. J. Kang, K.. Orientation Selectivity and Stimulus Contrast in Macaque V1. (2002). Program Neuroscience Meeting Planner. Orlando, FL: Society for Neuroscience, 2002. Online

Shimizu, T., & Karten, H. J. (1990). Immunohistochemical analysis of the visual wulst of the pigeon (*Columba livia*). *Journal of comparative neurology*, 300(3), 346-369.

Shimizu, T. & Bowers, A.N. (1999) Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behavioural Brain Research*, 98, 183-191.

Sharon e Grinvald, (2002) Sharon, D., and Grinvald, A. (2002). Dynamics and constancy in cortical spatiotemporal patterns of orientation processing. *Science* 295, 512–515.

Sillito AM. (1975). The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat. *Journal of physiology*. 250, 305–29

Skottun, B.C., Bradley, A., Sclar, G., Ohzawa, I. & Freeman, R.D. (1987) The Effects of Contrast on Visual Orientation and Spatial-Frequency Discrimination - A Comparison of Single Cells and Behavior. *Journal of Neurophysiology*, 57, 773-786.

Somers, D.C., Nelson, S.B. & Sur, M. (1995) An Emergent Model of Orientation Selectivity in Cat Visual Cortical Simple Cells. *Journal of Neuroscience*, 15, 5448-5465

Sompolinsky, H. & Shapley, R. (1997) New perspectives on the mechanisms for orientation selectivity. *Current Opinion in Neurobiology*, 7, 514-522.

Steinbach MJ, Money KE (1973) Eye-movements of the owl. *Vision Res* 13:889–891

Swindale, N. V.; Grinvald, A.; Shmuel, A. (2003) The spatial pattern of response magnitude and selectivity for orientation and direction in cat visual cortex. *Cerebral Cortex*, v.13, n.3, p.225-238.

Takahashi TT (2010) How the owl tracks its prey—II. *J Exp Biol* 213:3399–3408

Tanaka,K. (1983) Cross-Correlation Analysis of Geniculostriate Neuronal Relationships in Cats. *Journal of Neurophysiology*, 49, 1303-1318.

Treue, S., Hol, K., and Rauber, H.J. (2000). Seeing multiple directions of motion-physiology and psychophysics. *Nat. Neurosci.*3, 270–276.

Troyer,T.W., Krukowski,A.E., Priebe,N.J. & Miller,K.D. (1998) Contrast-invariant orientation tuning in cat visual cortex: Thalamocortical input tuning and correlation-based intracortical connectivity. *Journal of Neuroscience*, 18, 5908-5927.

van der Willigen,R.F., Frost,B.J. & Wagner,H. (2002) Depth generalization from stereo to motion parallax in the owl. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 187, 997-1007.

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

van der Willigen,R.F. (2011) Owls see in stereo much like humans do. *Journal of Vision*, 11.

Van Hooser,S.D., Heimel,J.A.F., Chung,S., Nelson,S.B. & Toth,L.J. (2005) Orientation selectivity without orientation maps in visual cortex of a highly visual mammal. *Journal of Neuroscience*, 25, 19-28.

Vidyasagar TR, Heide W (1984) Geniculate orientation biases seen with moving sine wave gratings: implications for a model of simple cell afferent connectivity. *Exp Brain Res* 57:196-200

Vidyasagar, T. R., & Sigüenza, J. A. (1985). Relationship between orientation tuning and spatial frequency in neurones of cat area 17. *Experimental Brain Research*, 57(3), 628-631.

Vreysen, S., Zhang, B., Chino, Y. M., Arckens, L., & Van den Bergh, G. (2012). Dynamics of spatial frequency tuning in mouse visual cortex. *Journal of neurophysiology*, 107(11), 2937-2949.

Wagner,H. & Frost,B. (1993) Disparity-Sensitive Cells in the Owl Have A Characteristic Disparity. *Nature*, 364, 796-798.

Wagner,H. & Frost,B. (1994) Binocular Responses of Neurons in the Barn Owls Visual Wulst. *Journal of Comparative Physiology A-Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 174, 661-670.

Wathey JC, Pettigrew JD (1989) Quantitative analysis of the retinal ganglion cell layer and optic nerve of the barn owl *Tyto alba*. *Brain Behav Evol* 5:279–292

Webster, M. A., & De Valois, R. L. (1985). Relationship between spatial-frequency and orientation tuning of striate-cortex cells. *JOSA A*, 2(7), 1124-1132.

Worgotten,F & Koch,C (1991). A Detailed Model of the Primary Visual Pathway in the Cat: Comparison of Afferent Excitatory and Intracortical Inhibitory Connection Schemes for Orientation Selectivity. *Journal of Neuroscience*, 11(7): 1959-1979

Wunderle T., Eriksson, D. and Schmidt, K. E. (2013), Multiplicative Mechanism of Lateral Interactions Revealed by Controlling Interhemispheric Input, *Cerebral Cortex*. 23(4):900-12

Wylie, D. R., Gutiérrez-Ibáñez, C., & Iwaniuk, A. N. (2015). Integrating brain, behavior, and phylogeny to understand the evolution of sensory systems in birds. *Frontiers in neuroscience*, 9.

Xing, D., Ringach, D. L., Shapley, R., & Hawken, M. J. (2004). Correlation of local and global orientation and spatial frequency tuning in macaque V1. *The Journal of physiology*, 557(3), 923-933.

Xing, D., Shapley, R.M., Hawken, M.J. & Ringach, D.L. (2005) Effect of stimulus size on the dynamics of orientation selectivity in Macaque V1. *J. Neurophysiol.*, 94, 799–812

Xu, X., Ichida, J., Shostak, Y., Bonds, A. B., & Casagrande, V. A. (2002). Are primate lateral geniculate nucleus (LGN) cells really sensitive to orientation or direction?. *Visual Neuroscience*, 19(01), 97-108.

Zeigler, P., & Schmerler, S. (1965). Visual discrimination of orientation by pigeons. *Animal Behavior*, 13, 475-477.

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.

Zhu, W., Xing, D., Shelley, M., & Shapley, R. (2010). Correlation between spatial frequency and orientation selectivity in V1 cortex: Implications of a network model. *Vision Research*, 50(22), 2261-2273.

