

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Engenharia
Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica

Lucas Ariel da Rocha Carvalho

**Análise da seletividade à orientação no potencial de campo local
em modelo animal utilizando técnicas estatísticas de
processamento de sinais**

Belo Horizonte

2020

Lucas Ariel da Rocha Carvalho

**Análise da seletividade à orientação no potencial de campo local em modelo animal
utilizando técnicas estatísticas de processamento de sinais**

Dissertação apresentada para o curso de mestrado em engenharia elétrica da Universidade Federal de Minas Gerais como requerimento parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Barbosa Melges

Coorientador: Prof. Dr. Jerome Baron

Belo Horizonte
2020

C331a

Carvalho, Lucas Ariel da Rocha.

Análise da seletividade à orientação no potencial de campo local em modelo animal utilizando técnicas estatísticas de processamento de sinais [recurso eletrônico] / Lucas Ariel da Rocha Carvalho. - 2020.

1 recurso online (82 f. : il., color.) : pdf.

Orientador: Danilo Barbosa Melges.

Coorientador: Jerome Paul Armand Laurent Baron.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 74-82.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia elétrica - Teses. 2. Potencial de campo local - Teses. 3. Processamento de sinais - Teses. 4. Curvas em engenharia - Teses. I. Melges, Danilo Barbosa. II. Baron, Jerome Paul Armand Laurent. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 621.3(043)

"Análise da Seletividade à Orientação No Potencial de Campo Local Em Modelo Animal Utilizando Técnicas Estatísticas de Processamento de Sinais"

Lucas Ariel da Rocha Carvalho

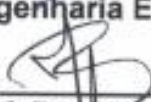
Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

Aprovada em 23 de dezembro de 2020.

Por:



Prof. Dr. Danilo Barbosa Melges
Departamento de Engenharia Elétrica (UFMG) - Orientador



Prof. Dr. Jerome Baron
Instituto de Ciências Biológicas (UFMG) - Coorientador



Prof. Dr. Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá
Programa de Engenharia Biomédica (UFRJ)



Prof. Dr. Renan Fernandes Kozan
Departamento de Engenharia Elétrica (UFMG)

Agradecimentos

Primeiramente, e acima de tudo, gostaria de agradecer à minha família, meu pai José Teixeira e meu irmão por todo o apoio ao longo da minha vida. Em especial, gostaria de agradecer e dedicar este trabalho em memória da minha mãe Rozilene, que, apesar de não ter estado presente durante o mestrado, foi fundamental na minha vida e contribuiu muito para que eu chegasse até aqui.

Aos meus professores, por toda a dedicação e sabedoria concedida neste mestrado. Em especial, ao Dr. Danilo Melges pela paciência, ética e apoio durante o processo de orientação. Agradeço também ao Dr. Jerome Baron e ao Lanevi, por todo o suporte e parceria durante a elaboração da pesquisa.

Aos amigos do LEB e da UFMG, pela amizade e apoio nesses anos, em especial a Thiago Lucas, Fabiano Médice, Manoel Pereira, Letícia Pereira, Henrico Barbosa, Alcendino Neto, Higor, Luiza, Nayron, Hélio e Rafael.

Aos amigos que fiz na UFV, que mesmo depois de todos esses anos estão presentes na minha vida, em especial Lídia, Dhiogo, Clara, André, Leandro, Guedes, Henrique, Gustavo, Rodrigo, Mateus.

“Seja a mudança que você quer ver no mundo.” By Mahatma Gandhi

Resumo

A seletividade à orientação (SO) é um fenômeno observado quando se estimula o campo receptivo de uma célula com múltiplas orientações de contorno e se verifica um máximo na taxa de disparos de potenciais de ação (PA) de neurônios individuais (SUA, *Single-Unity Activity*). A SO é usualmente estudada por meio da curva de sintonia (CS), função que relaciona a taxa de disparos de (PA) com os ângulos de orientação de um estímulo. Outro sinal eletrofisiológico adquirido por microeletrodos extracelulares intracerebrais e que tem se mostrado útil para investigar mecanismos relacionados à SO é o Potencial de campo local (LFP, de *Local Field Potential*), composto por flutuações de baixa frequência (<250 Hz) oriundas da atividade integrada de uma população de neurônios ao redor do eletrodo. Assim, o presente trabalho visa a avaliar se parâmetros de frequência do LFP preservam informação de SO verificadas na CS quando da apresentação de estímulos visuais. Para tanto, sinais de LFP (fs = 1 kHz) e SUA (fs = 32 kHz) foram coletados de 106 sítios do *wulst* visual de corujas Tyto Alba em períodos com e sem a presença de estímulos visuais (grades senoidais), cuja orientação variou de 0-360° com passos de 22,5°, com 9 ensaios para cada orientação. Foi calculado um conjunto de estimativas nas bandas delta (0,5-4 Hz), teta (4,5-8 Hz), alfa (8,5-14 Hz), beta (14,5-30 Hz) e gama (30,5-100 Hz) dos sinais de LFP e comparadas a CS de neurônios individuais (SUA). As técnicas empregadas foram: Potência (Pot), Teste F Espectral (TFE), Magnitude Quadrática da Coerência (MSC), *Phase Locking Value* (PLV) e *Spike-triggered Correlation Matrix Synchronization* (SCMS). O *Spearman Rank Correlation test* foi aplicado às curvas CS e de técnicas do LFP para avaliar a correlação entre elas. Além disso, foi verificado se estimadores de seletividade à orientação e direção do LFP e da CS possuíam similaridades ao longo de diferentes sítios. Para tanto, os parâmetros estatísticos unitários, Índice de Orientação (OI), Índice de Direção (DI), Variância Circular de Orientação (VCO) e Variância Circular de Direção (VCD) foram aplicados sobre as técnicas (Pot, TFE, MSC, PLV e SCMS) e a CS, sendo calculados os coeficientes de correlação de Spearman. Os resultados mostraram que as estimativas baseadas na magnitude (Pot e TFE) preservam informações da CS nas bandas beta e gama, enquanto as técnicas que utilizam a informação de fase (PLV e MSC) não reproduzem a CS em nenhuma banda. Adicionalmente, a estimativa do sincronismo entre potenciais de ação e LFP, calculada a partir do SCMS, mantém as características da CS em todas as bandas, exceto delta.

Palavras-chave: seletividade à orientação; potencial de campo local (LFP); curva de sintonia; técnicas ORD; *single-unity activity* (SUA).

Abstract

Orientation selectivity is a phenomenon observed by stimulating the receptive field of a cell with multiple boundary orientations and verifying the maximum firing rate of individual neuron (SUA, Single-Unity Activity). OS is usually studied by means of the tuning curve, a function of the firing rate and the orientation angles of a stimulus. Another electrophysiological signal acquired by intracerebral extracellular microelectrodes, which showed to be useful for investigating processes related to orientation selectivity, is the Local Field Potential (LFP). The LFP is composed of low frequency fluctuations (<250 Hz) from the integrated activity of a neuron population around the electrode. Thus, the present work aims at evaluating whether LFP frequency parameters preserve orientation selectivity information verified in the tuning curve during visual stimuli presentation. For this purpose, LFP signals ($f_s = 1$ kHz) and SUA ($f_s = 32$ kHz) were collected from 106 sites of the visual *wulst* of Tyto Alba owls during periods with and without the presence of visual stimuli (sinusoidal gratings) with orientation varying from 0 to 360° in steps of 22.5°, with 9 trials for each orientation. A set of estimates was calculated for the LFP signals within delta (0.5-4 Hz), theta (4.5-8 Hz), alpha (8.5-14 Hz), beta (14.5-30 Hz) and gamma (30.5-100 Hz) bands and compared to tuning curve of individual neurons (SUA). The employed techniques were: Power (Pow), Spectral F Test (SFT), Magnitude-squared Coherence (MSC), Phase Locking Value (PLV), and Spike-triggered Correlation Matrix Synchronization (SCMS). The Spearman Rank Correlation Test was applied to tuning curve and LFP techniques curves to assess the correlation between them. In addition, it was verified whether selectivity estimators of orientation and direction of the LFP and tuning curve have similarities across different sites. For this purpose, unitary statistical parameters, Orientation Index (OI), Direction Index (DI), Circular Variance of Orientation (CVO) and Circular Variance of Direction (CVD) were applied to the LFP techniques (Pow, TFE, MSC, PLV and SCMS) and tuning curve, and calculating the Spearman correlation coefficient. The results showed that magnitude-based estimates (Pow and TFE) preserve tuning curve information in the beta and gamma bands, while techniques that employ phase information (PLV and MSC) do not reproduce tuning curve in any band. Additionally, the estimate of the synchronism between spikes and LFP, calculated from the SCMS, keeps the tuning curve characteristics in all bands.

Keywords: orientation selectivity; local field potential (LFP); tuning curve; ORD techniques; single-unity activity (SUA).

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Exemplo de seletividade à orientação observada por Hubel e Wiesel (1962). A primeira coluna consiste em várias grades com diferentes orientações usadas como estímulo de um campo receptivo de um neurônio. Já a segunda coluna mostra a resposta neuronal ao respectivo estímulo, representada por disparos de potenciais de ação.	22
Figura 2.2 Seletividade à orientação de campos receptivos alongados de neurônios em V1 formados a partir da sobreposição de campos receptivos circulares com regiões <i>ON</i> (centro) e <i>OFF</i> (periferia) no núcleo geniculado lateral (Modificada de Priebe, 2016).	23
Figura 2.3 Curva de sintonia de dois sítios do <i>wulst</i> visual de corujas. No sítio representado em a), é observada apenas a seletividade à orientação, pois a curva é simétrica. Já o sítio representado em b) apresenta seletividade à orientação e direção, por possuir apenas um ângulo de máxima resposta.....	24
Figura 2.4 Estímulo de Gabor composto por contornos ilusórios utilizados por Nieder e Wagner (1999), imagem extraída de Watson; Ramirez; Salud (2009).....	31
Figura 3.1 Exemplo de estímulo formado por grades senoidais.	38
Figura 3.2 Diagrama de blocos com as etapas de processamento para comparação entre a potência do LFP e a SUA.	40
Figura 3.3 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar TFE do LFP com a SUA.	42
Figura 3.4 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar MSC do LFP com a SUA.	44
Figura 3.5 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar PLV do LFP com a SUA.	45
Figura 3.6 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar SCMS do LFP com a SUA.....	49
Figura 4.1 Potência (em mV^2) do LFP na presença e ausência de estímulo do sítio cool012a02_2B. Notar que os raios são diferentes para cada banda.	52
Figura 4.2 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool019a01_2B do grupo P1.	53
Figura 4.3 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool012a02_1B do grupo P2, com similaridade CSn/Potn nas bandas beta e gama.....	54

Figura 4.4 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool019a01_1B do grupo P2 com similaridade entre CSn e Potn apenas na banda gama.....	55
Figura 4.5 Potn e CSn nas bandas gama alta e baixa do sítio cool012a02_1B pertencente ao grupo P2.....	55
Figura 4.6 Diagramas de caixa dos coeficientes de correlação de Spearman entre Potn e CSn.	56
Figura 4.7 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a potência e a CS do LFP.....	56
Figura 4.8 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn, em azul, do sítio ori015a01_2C pertencente ao grupo T1.	57
Figura 4.9 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori026a01_3A do grupo T2, da qual a CSn segue o TFEn nas bandas beta e gama.	58
Figura 4.10 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn, em azul, do sítio ori004a01_2B pertencente ao grupo T2 com TFEn similar a CSn apenas na banda gama.	58
Figura 4.11 Diagramas de caixa dos coeficientes de correlação de Spearman entre TFEn e CSn em cada banda.....	60
Figura 4.12 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a TFEn e a CSn.....	60
Figura 4.13 TFE (em azul) e valores críticos (em vermelho) do sítio ori003a01_3B pertencente ao grupo T1. Note que para comparação com os valores críticos foi utilizado o TFE sem normalização.	61
Figura 4.14 TFE (em azul) e valores críticos (em vermelho) do sítio cool020a01_1B pertencente ao grupo T2.	61
Figura 4.15 MSC normalizado (MSCn), em vermelho, e CSn (azul) do sítio ori060a01_2B.	63
Figura 4.16 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a MSCn e a CSn.	63
Figura 4.17 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a MSC e a CS.....	64
Figura 4.18 Média normalizada das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul) do sítio ori053a01_2A.....	64

Figura 4.19 Variância normalizada das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori053a01_2A.	65
Figura 4.20 <i>Fanofactor</i> normalizado das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori053a01_2A.	65
Figura 4.21 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a média do PLV e a CS.	66
Figura 4.22 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a variância do PLV e a CS.....	66
Figura 4.23 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre o <i>fanofactor</i> do PLV e a CS.	67
Figura 4.24 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a média do PLV e a CS.....	67
Figura 4.25 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a variância do PLV e a CS.....	68
Figura 4.26 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre o <i>fanofactor</i> do PLV e a CS.....	68
Figura 4.27 SCMS normalizado (SCMSn) em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio cool019a02_1B.	69
Figura 4.28 SCMS normalizado (SCMSn) em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori006a01_1B.	70
Figura 4.29 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre o SCMS e a CS.....	70
Figura 4.30 Percentual de sítios para os quais o <i>Spearman Rank Correlation Test</i> indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre o SCMS e a CS.....	71
Figura 4.31 Gráficos de dispersão do índice de orientação na banda gama das métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, <i>Fanofactor</i> do PLV, TFE, SCMS e MSC) e da CS. A reta em vermelho foi traçada somente como uma referência para avaliar a dispersão em torno da reta $y = x$, onde x representa o eixo das abcissas e y o eixo das ordenadas.....	72
Figura 4.32 Gráficos de dispersão do DI na banda gama das métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, <i>Fanofactor</i> do PLV, TFE, SCMS e MSC) e da CS.	73
Figura 4.33 Gráfico de dispersão da variância circular de orientação para as métricas do LFP na banda gama e para CS.....	75

Figura 4.34 Gráfico de dispersão da variância circular de direção para as métricas do LFP e para CS na banda gama..... 76

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Coeficiente de correlação de Spearman dos OIs para as métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, Fanofactor do PLV, TFE, SCMS e MSC) e para CS em cada banda.....	72
Tabela 4.2 Coeficiente de correlação de Spearman dos DIs para as métricas do LFP da CS em cada banda.....	74
Tabela 4.3 Coeficiente de correlação de Spearman da variância circular de orientação para as métricas do LFP e para CS em cada banda.	75
Tabela 4.4 Coeficiente de correlação de Spearman da VCD para as métricas do LFP e para CS em cada banda.....	76

NOMENCLATURA

ABREVIATURAS:

CS	Curva de Sintonia
CSn	Curva de Sintonia normalizada
DI	<i>Direction Index</i>
EEG	Eletroencefalograma
H0	Hipótese nula
LFP	<i>Local Field Potential</i>
MSC	<i>Magnitude - Squared Coherence</i>
MSCn	<i>Magnitude-Squared Coherence normalizada</i>
MUA	<i>Multi Unity Activity</i>
OI	<i>Orientation Index</i>
ORD	<i>Objective Response Detection</i>
PA	Potencial de ação
PLV	<i>Phase Locked Value</i>
PLVn	<i>Phase Locked Value</i> normalizado
Potn	Potência normalizada
PPC	<i>Pairwise phase consistency</i>
SCMS	<i>Spike triggered correlation matrix synchronization</i>
SCMSn	<i>Spike triggered correlation matrix synchronization</i> normalizada
SFC	<i>Spike field coherence</i>
SRCT	<i>Spearman Rank Correlation Test</i>
SO	Seletividade à orientação
SUA	<i>Single unit activity</i>

TFE	Teste F Espectral
TFEn	Teste F Espectral normalizado
V1	Córtex estriado
VCD	Variância circular de direção
VCO	Variância circular de orientação

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Objetivo	18
1.2	Objetivos específicos	18
1.3	Organização do texto	19
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1	Seletividade à orientação	20
2.2	Potencial de campo local (LFP).....	26
2.3	O <i>wulst</i> visual de corujas	29
2.4	Técnicas aplicadas à análise do LFP e SUA	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1	Aquisição de sinais LFP e SUA.....	37
3.2	Pré-processamento	38
3.3	Processamento	38
3.3.1	Potência	39
3.3.2	Teste F espectral (TFE)	40
3.3.3	Magnitude Quadrática da Coerência (MSC)	42
3.3.4	Phase Locking Value (PLV).....	44
3.3.5	Spike-triggered Correlation Matrix Synchronization (SCMS).....	45
3.3.6	Índices de seletividade.....	50
4	RESULTADOS.....	52
4.1	CS vs Potência	52
4.2	CS vs TFE.....	57
4.3	CS vs MSC.....	62
4.4	CS vs PLV	62
4.6	CS vs SCMS	69
4.7	Parâmetros estatísticos unitários	71

4.7.1	Índices de orientação (OI)	71
4.7.2	Índice de direção (DI).....	73
4.7.3	Variância circular de orientação (VCO) e direção (VCD)	74
5	DISCUSSÃO	78
6	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

1 Introdução

Neurônios transmitem informação gerando breves impulsos elétricos chamados potenciais de ação (PAs). Durante várias décadas, métodos que permitem o registro extracelular e *in vivo* de PAs de neurônios individuais (SUA, do inglês *Single-Unity Activity*) ou de um pequeno grupo de neurônios (MUA, *multi-unity activity*) foram amplamente usados e aperfeiçoados, proporcionando assim avanços consideráveis na compreensão das mais diversas funções do sistema nervoso (ARMSTRONG; HILLE, 1998). Um exemplo paradigmático desta abordagem é o estudo da seletividade à orientação (SO) no córtex visual primário de mamíferos (V1), impulsionado pelos trabalhos pioneiros de Hubel e Wiesel (HUBEL; WIESEL, 1962). Tradicionalmente, a SO é verificada quando apenas uma dentro de múltiplas orientações de um contorno usado para estimular o campo receptivo de uma célula provoca um máximo significativo na taxa de disparos de PAs desta célula. A função que relaciona a taxa de disparos de PAs com os valores angulares de orientação de um estímulo é chamada de curva de sintonia (CS). Várias linhas de evidência (TANAKA, 1983; FERSTER; CHUNG; WHEAT, 1996; LIEN; SCANZIANI, 2013) sugerem que, pelo menos em primatas e carnívoros, a SO é uma propriedade emergente do V1, e é determinante para que outras áreas localizadas em níveis mais elevados na hierarquia cortical pudessem elaborar representações visuais mais abstratas.

Além do sinal unitário, um outro sinal eletrofisiológico que pode ser adquirido a partir de microeletrodos extracelulares intracerebrais é o potencial de campo local (LFP, do inglês *Local Field Potential*). Este sinal é composto por flutuações de tensão de baixa frequência (<250 Hz), refletindo, essencialmente, a atividade agregada de processos sinápticos operando em uma população expressiva de neurônios ao redor do eletrodo (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

Assim, em princípio, o LFP proporciona uma medida de obtenção relativamente fácil e potencialmente útil para desvendar mecanismos biofísicos subjacentes ao surgimento de características funcionais como a SO no V1. Entretanto, esta concepção tem sido questionada com base na notória dificuldade para se definir precisamente a origem do LFP (HERRERAS, 2016). Logicamente, uma melhor compreensão da

informação contida no LFP pode ser obtida comparando diretamente as propriedades de resposta deste sinal com aquelas provenientes de um sinal local e de origem explícita, como a SUA. Seguindo esta linha de raciocínio, o presente trabalho visa a avaliar a correlação entre o LFP e a SUA com relação aos aspectos da SO. Para tal, escolhemos o *wulst* visual de corujas como modelo experimental. O *wulst* visual é uma área multilaminada do telencéfalo de aves, considerada homóloga ao V1 dos mamíferos, apresentando a SO como uma característica dominante de sua organização funcional. Um fato intrigante, porém, é que essa semelhança funcional emerge de duas estruturas anatomicamente distintas (BARON *et al.*, 2007).

Assim, os resultados apresentados a seguir oferecem uma oportunidade ímpar de estabelecer um maior entendimento acerca dos fatores estruturais que determinam significativamente as características do LFP e a sua relação com a SUA. Para este propósito, o presente trabalho visa avaliar se parâmetros baseados no LFP preservam informação de SO verificadas na CS quando da apresentação de estímulos visuais.

1.1 Objetivo

Este trabalho propõe investigar se características da curva de sintonia são preservadas em parâmetros de frequência do LFP, no contexto de seletividade à orientação.

1.2 Objetivos específicos

- i. Investigar a variação de potência do LFP devido ao estímulo em função da banda de frequência e da orientação da grade (*gratings*) presente no estímulo visual.
- ii. Comparar técnicas de processamento no domínio da frequência aplicados ao LFP e verificar se estas estão correlacionadas com a Curva de Sintonia (CS). Serão investigadas as seguintes técnicas: Teste F Espectral (TFE), Magnitude Quadrática da Coerência (MSC), *Phase Locking Value* (PLV) e *Spike Triggered Correlation Matrix Synchronization* (SCMS).
- iii. Comparar índices de seletividades das técnicas citadas em ii com os da CS. Os parâmetros a serem estudados são: Índice de Orientação (OI),

Índice de Direção (DI), Variância Circular de Orientação (VCO) e Variância Circular de Direção (VCD).

1.3 Organização do texto

O desenvolvimento deste trabalho é apresentado em 6 capítulos. No presente capítulo, apresentamos a motivação e objetivos do trabalho. O Capítulo 2 contém uma breve revisão sobre princípios da seletividade à orientação e do LFP, além da descrição do modelo animal utilizado. Na sequência, no capítulo 3 é descrito o protocolo experimental, o modo de estimulação e os métodos de pré-processamento e processamento de sinais empregados nesta dissertação. Os resultados de todas as técnicas são apresentados no Capítulo 4. No quinto capítulo, confrontamos os resultados deste trabalho com aqueles reportados na literatura, sendo a conclusão e sugestões de trabalhos futuros apresentados no Capítulo 6.

2 Fundamentação Teórica

Neste capítulo, é apresentada uma breve revisão sobre os fenômenos fisiológicos relacionados ao tema da dissertação, tais como seletividade à orientação e LFP, bem como das técnicas empregadas para seu estudo.

2.1 Seletividade à orientação

A principal forma de transmissão de informação entre os neurônios é por meio de breves impulsos elétricos chamados potenciais de ação (PAs). Segundo Armstrong e Hille (1998), potenciais de ação, ou *spikes*, correspondem a variações bruscas na diferença de potencial elétrico da membrana celular, com valores que vão de -65 mV até 20 mV, retornando depois para -65 mV. Tal fenômeno acontece devido à abertura de pequenos poros na membrana celular chamados canais de sódio e potássio, por onde passam íons produzindo alterações no potencial de membrana ao longo da duração do *spike*.

Os PAs possuem vital importância nos animais, possibilitando desde a contração muscular até a comunicação entre neurônios. Entretanto, apesar de inúmeros avanços na compreensão dos *spikes*, nas últimas décadas, muitas questões relativas à interpretação de processos fisiológicos relacionados aos disparos de potenciais de ação de conjuntos de neurônios são ainda incompreendidas. Uma delas diz respeito ao mecanismo de codificação de informação entre neurônios através de PAs (DETTNER; MÜNZBERG; TCHUMATCHENKO, 2016).

Durante várias décadas, métodos que permitem o registro extracelular e *in vivo* de PAs de neurônios individuais (SUA, do inglês *single-unity activity*) ou de um pequeno grupo de neurônios (MUA, *multi-unity activity*) foram amplamente usados e aperfeiçoados, proporcionando, assim, avanços consideráveis na compreensão das mais diversas funções do sistema nervoso. Atualmente, sabe-se que a MUA carrega informações a respeito destes potenciais de ação e pode ser visto como a saída de um sistema composto por uma população local de neurônios, enquanto a SUA reflete a atividade de uma única célula. Assim, como o PA possui bruscas variações no tempo, a

potência do SUA/MUA está mais concentrada em bandas de altas frequências (0,6 até 3 kHz) (BERENS *et al.*, 2008).

Tanto a SUA quanto a MUA apresentam mudanças em suas características devido à estimulação visual, tendo sido estudadas inicialmente na década de 40, com a descoberta dos campos receptivos no córtex visual. Segundo Priebe (2016), o campo receptivo é uma porção do espaço sensorial que pode desencadear disparos de potenciais de ação e outras despolarizações da membrana de um determinado neurônio quando estimulado. Tal conceito surgiu para o sistema visual, porém, atualmente, sua definição é estendida para qualquer sistema sensorial. De fato, campos receptivos neuronais, em todas as modalidades sensoriais, determinam o quanto de informação proveniente do meio é transformada e processada (PRIEBE, 2016).

A partir da ideia de campo receptivo, já na década de 60, Hubel e Wiesel (HUBEL; WIESEL, 1962) desenvolveram estudos importantes sobre a fisiologia do sistema visual. Em um destes trabalhos, eles conseguiram demonstrar uma marcante característica a respeito da resposta neuronal ao estímulo visual: a seletividade à orientação (SO). Por meio de medições no córtex estriado de macacos (V1), foi constatado que muitos neurônios em V1 respondem melhor a uma barra de luz alongada que cruza seus campos receptivos em uma orientação angular específica do que em outras orientações (Figura 2.1). Ou seja, nesta camada de processamento visual, o cérebro consegue diferenciar distintas orientações e transmite esta informação para as camadas de processamento de mais alto nível por meio de disparos de potenciais de ação. Com base na SO, acredita-se que tais neurônios do cérebro estejam relacionados à análise da forma dos objetos, uma vez que permite delimitar bordas em uma imagem (HUBEL; WIESEL, 1962).

A Figura 2.2 exemplifica a SO encontrada por Hubel e Wiesel. Devido aos processos de aferências sinápticas, grande parte dos neurônios possuem campos receptivos com regiões ON-OFF. As regiões ON, quando estimuladas, levam ao aumento da taxa de disparos de potenciais de ação, enquanto as regiões OFF levam a diminuição desta taxa. Na Figura 2.2, as regiões ON e OFF estão representadas, respectivamente, por X e triângulos. Desta forma, o modelo proposto por Hubel e Wiesel afirma que células simples em V1 (neurônios que recebem entradas diretas do núcleo geniculado lateral) são seletivas à orientação em virtude da entrada excitatória do

núcleo geniculado lateral, cujos campos receptivos são alinhados ao longo do eixo de orientação preferida de estímulo das células simples.

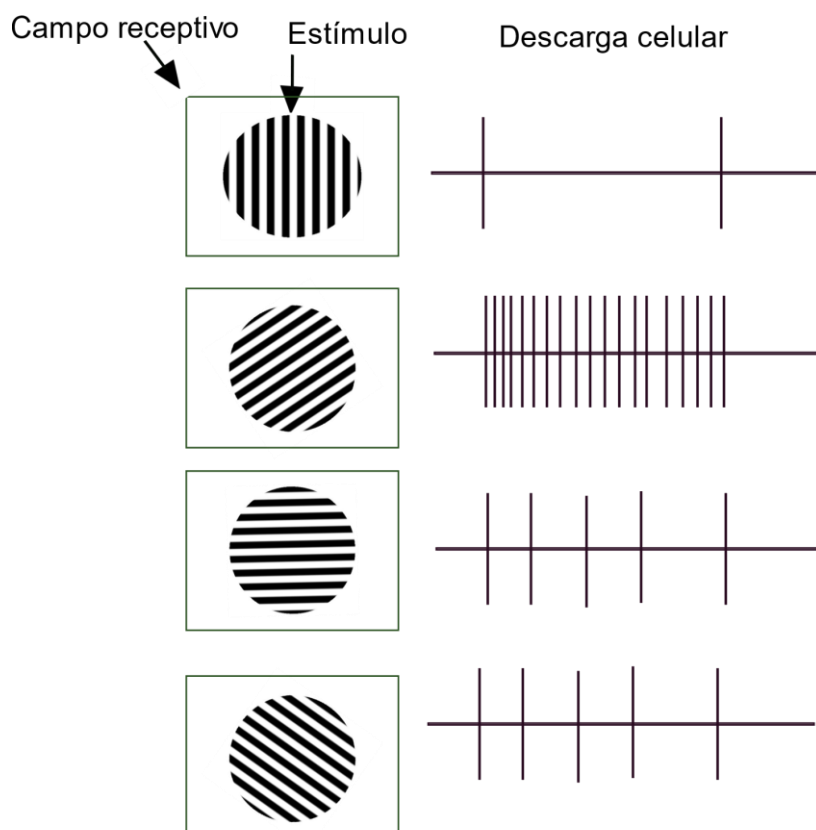


Figura 2.1 Exemplo de seletividade à orientação observada por Hubel e Wiesel (1962). A primeira coluna consiste em várias grades com diferentes orientações usadas como estímulo de um campo receptivo de um neurônio. Já a segunda coluna mostra a resposta neuronal ao respectivo estímulo, representada por disparos de potenciais de ação.

É evidente, pela Figura 2.2, que os alinhamentos dos campos receptivos fazem com que o neurônio tenha uma preferência de orientação. Individualmente, as células do núcleo geniculado lateral não possuem seletividade à orientação, porém, quando o estímulo se alinha com o campo receptivo de várias células do núcleo geniculado lateral, ele produz uma resposta aguda. Por outro lado, quando se alinha ortogonalmente ao eixo formado a partir dos campos receptivos individuais, a taxa de disparos é reduzida e mais espalhada no tempo, uma vez que o estímulo atinge o campo receptivo das células individuais em momentos distintos. Também é importante ressaltar que no núcleo geniculado lateral, ao contrário do V1, as células são insensíveis à orientação devido à simetria circular de seus campos receptivos. Além disso, na orientação preferida, as variações nas taxas de disparo de potencial de ação são quase simultâneas

na região de transmissão entre o núcleo geniculado lateral e V1, enquanto para outras orientações não se observa tal sincronismo. Esta foi a explicação dada por Hubel e Wiesel (HUBEL; WIESEL, 1962) como causa da seletividade à orientação no córtex visual de macacos.

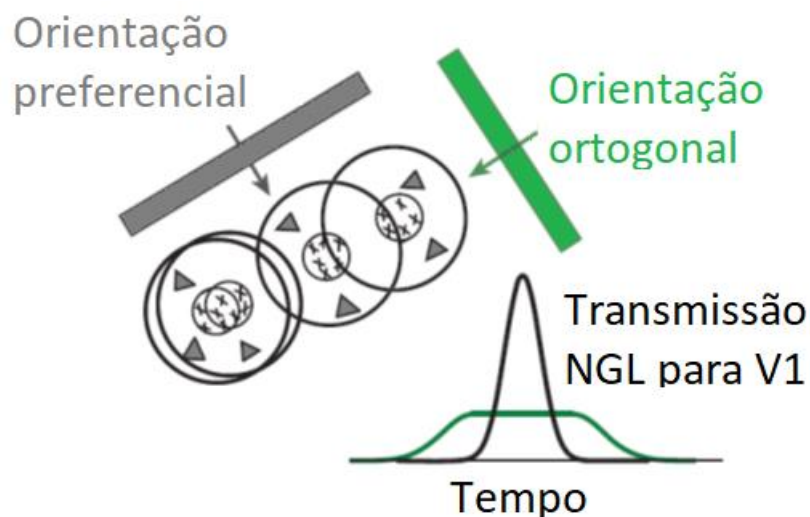


Figura 2.2 Seletividade à orientação de campos receptivos alongados de neurônios em V1 formados a partir da sobreposição de campos receptivos circulares com regiões *ON* (centro) e *OFF* (periferia) no núcleo geniculado lateral (Modificada de Priebe, 2016).

Os experimentos de Hubel e Wiesel também mostraram que é possível construir uma função que mostre a afinidade de um neurônio com determinada orientação, chamada Curva de Sintonia (CS). A seletividade à orientação também é verificada para outros animais, como aves e roedores, por exemplo. E, no caso do presente trabalho, o interesse é investigar tal fenômeno em corujas. A Figura 2.3 ilustra, em coordenadas polares, as CS correspondentes ao registro de dois sítios no *wulst* visual de corujas, sendo o raio a taxa média de disparos de potenciais de ação para cada orientação, considerando todos os ensaios (*trials*).

Como se pode notar, maiores taxas de disparos ocorrem nos ângulos 225° e 45° , o que leva a um indício de que esta é a orientação preferida de determinada população de neurônios registrada no sítio. Da mesma forma, nos ângulos $337,5^\circ$ e $157,5^\circ$ ocorrem as menores taxas de disparos de potenciais de ação. Ou seja, a orientação preferida e a orientação de mínima resposta são aproximadamente ortogonais, similar ao modelo

proposto por Hubel e Wiesel (1962) para explicar a seletividade à orientação no córtex V1 de macacos.

Pelo fato das respostas obtidas na Figura 2.3 serem registradas durante estimulação composta por grades senoidais simétricas, a ocorrência de máxima resposta em dois ângulos e a simetria da CS (Figura 2.3a) também eram esperadas, indicando seletividade à orientação, ou seja, há taxa de disparos de PA similar para estímulos com defasagem de 180 graus (mesma orientação e movimento em direções opostas). Contudo, um percentual representativo dos sítios possui uma CS tal como mostra a Figura 2.3b. Nestes sítios, existe uma tendência de simetria na CS, entretanto, a amplitude de uma parte das orientações de maior resposta é superior à das outras orientações com defasagem de 180 graus. Assim, os sítios que não possuem simetria na curva de sintonia podem ser interpretados como seletivos à direção e não apenas a orientação (HUBEL; WIESEL, 1962). Desta forma, apesar destes gráficos se referirem ao *wulst* visual de corujas, enquanto os experimentos de Hubel e Wiesel foram feitos em macacos, é possível encontrar várias semelhanças entre os modelos animais.

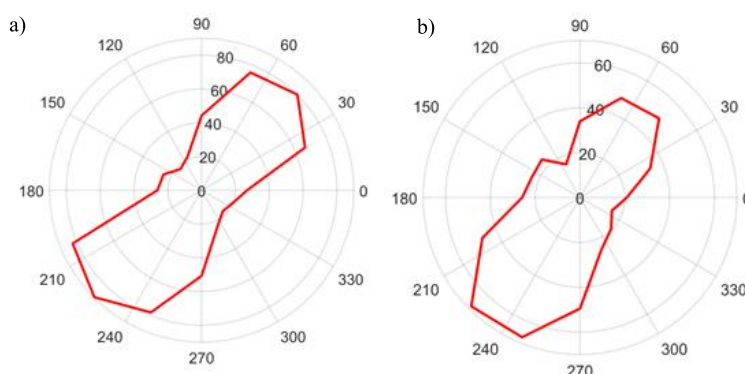


Figura 2.3 Curva de sintonia de dois sítios do *wulst* visual de corujas. No sítio representado em a), é observada apenas a seletividade à orientação, pois a curva é simétrica. Já o sítio representado em b) apresenta seletividade à orientação e direção, por possuir apenas um ângulo de máxima resposta.

Ao longo das décadas, outros estudos confirmaram as ideias de Hubel e Wiesel sobre as causas da seletividade à orientação. Na década de 80, Tanaka (1983) registrou simultaneamente pares de células de transmissão entre o núcleo geniculado lateral e V1 e constatou as mesmas características de polaridade e seletividade espacial em cada par. Ferster; Chung e Wheat (1996) também realizaram uma série de experimentos que concluíram que seletividade à orientação em V1 não é afetada pela inativação cortical.

Tais experimentos forneceram evidências de que as propriedades do campo receptivo nas células de transmissão entre o núcleo geniculado lateral e o V1 são suficientes para fundamentar a seletividade à orientação e que influências corticais possuem um papel secundário sobre esta propriedade.

Outro estudo mais recente (LIEN; SCANZIANI, 2013) também investigou o papel das aferências do tálamo na seletividade à orientação suprimindo-se influências corticais, através de inibidores químicos. Os resultados mostram que as aferências talâmicas influenciam a seletividade à orientação, porém em menor escala. Desta forma, ainda há muito a ser compreendido sobre as causas da seletividade à orientação, porém muitos estudos até então trazem evidências de que as transmissões do núcleo geniculado lateral ao V1, em primatas, é a principal causa, tal como previram Hubel e Wiesel (TANAKA, 1983; FERSTER; CHUNG; WHEAT, 1996; PRIEBE, 2016).

Outra característica de interesse sobre a seletividade à orientação diz respeito ao ângulo de orientação preferencial em regiões vizinhas do córtex visual. Hubel e Wiesel (1962) também notaram que a medida em que um microeletrodo avança em uma direção radial (perpendicular à superfície) ao tecido celular, a orientação preferencial permanece a mesma, formando colunas no cérebro com a mesma orientação preferencial, denominadas colunas de orientação (HUBEL; WIESEL, 1962). Entretanto, avanços do microeletrodo na região tangencial modificam o ângulo de orientação preferencial. Tal fenômeno é encontrado principalmente em primatas e carnívoros. Entretanto, em ratos não existe esta organização funcional. Assim, pode-se afirmar que dentro do córtex visual existe um mapa de orientação, ou seja, regiões cujos neurônios possuem determinadas orientações preferenciais.

Desta forma, apesar de ter sido proposto há quase seis décadas e possuir algumas inconsistências, como por exemplo invariância ao contraste (SCLAR; FREEMAN, 1982) e variação da dinâmica temporal da CS (RINGACH; HAWKEN; SHAPLEY, 1997), o modelo de Hubel e Wiesel fornece uma explicação simplificada e elegante sobre um fenômeno cujos mecanismos subjacentes a sua percepção ainda não são compreendidos (PRIEBE, 2016).

2.2 Potencial de campo local (LFP)

O Potencial de campo local (LFP, do inglês *Local Field Potential*) é uma medida eletrofisiológica de flutuações de baixa frequência (geralmente menor que 250 Hz) no potencial extracelular cerebral. Ele reflete a atividade neuronal de vários processos, tais como entradas de aferências sinápticas, processamento de microcircuito e atividades de baixa frequência dos PAs (SALELKAR; SOMASEKHAR; RAY, 2018), podendo ser registrado através de matrizes de eletrodos inseridas dentro do cérebro.

Alguns estudos mostram diversas aplicações do LFP. Gail, Brinksmeyer e Eckhorn (2004) aplicaram estímulos de rivalidade binocular (diferentes estímulos em cada olho) em macacos acordados, enquanto era medido o LFP. Devido à diferença de estimulação em cada olho, a percepção dos macacos mudava com o tempo. Assim, os autores concluíram que existe uma modulação nas baixas frequências entre a coerência do LFP e o estado de percepção. Já Pesaran *et al.* (2002) reportaram uma maior potência na banda gama (30-100 Hz) do LFP durante atividades envolvendo memória de trabalho em macacos. E Engel, Fries e Singer (2001) sugeriram que o LFP apresenta características que permitem identificar e prever a direção de um movimento a ser realizado, indicando que o LFP poderia ser útil na construção de interfaces cérebro-máquina.

Apesar das várias aplicações, muitas questões relativas à interpretação de processos fisiológicos a partir do LFP são ainda incompreendidas, sendo objeto de estudo de um número cada vez maior de trabalhos (PESARAN *et al.*, 2002; GAIL; BRINKSMAYER; ECKHORN, 2004; BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012). Uma das controvérsias existentes na literatura é quanto à origem do sinal de LFP. Acredita-se que a fonte de maior contribuição para sua formação sejam correntes sinápticas transmembranas ao redor do microeletrodo. Outras fontes, como *spikes* de cálcio e sódio, fluxos iônicos através de canais ativados por tensão e oscilações intrínsecas do potencial de membrana também parecem contribuir de forma relevante para a formação do LFP (BUZSÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

Alguns dos principais problemas para a compreensão destes mecanismos são a geometria altamente irregular dos circuitos neuronais e a dimensão microscópica dos neurônios, que são as fontes de correntes iônicas cerebrais. Apesar dos neurônios possuírem um formato regular e estável, o fato deles operarem juntamente com vários

outros neurônios diferentes pode fazer com que os circuitos formados tenham uma variação geométrica funcional, dependendo das sinapses ativas naquele instante de tempo. Desta forma, é muito difícil determinar a significância de determinada célula individual para a composição do LFP como fonte de corrente, sendo que boa parte das correntes sinápticas se cancelam devido às estruturas de dipolos geradores do LFP (HERRERAS, 2016).

Além disso, ainda não é compreendida a representatividade espacial do LFP, ou seja, até que distância da ponta do eletrodo de registro as células possuem atividades que influenciam no sinal de LFP. Tal questão é muito interessante, pois permite analisar se o LFP reflete a atividade de uma população local de células ou de uma região cerebral mais abrangente. Alguns estudos estimam que a extensão espacial do LFP é cerca de centenas de micrômetros (~400 μm) até alguns milímetros (LIU; NEWSOME, 2006; BERENS *et al.*, 2008), enquanto outros avaliam que o LFP corresponderia a uma atividade mais local, com representatividade espacial em um raio de cerca de 250 μm (KREIMAN *et al.*, 2006). De fato, não existe uma concordância sobre o tema, mesmo porque não é esperado que esta região de integração de correntes sinápticas tenha limites precisos, o que dificulta ainda mais sua estimativa (HERRERAS, 2016).

Outro importante fator neste debate diz respeito às propriedades de resposta em frequência do tecido cerebral. Alguns estudos apontam para uma resposta em frequência análoga à de um circuito RC passa-baixas (LIU; NEWSOME, 2006; BERENS *et al.*, 2008; LASHGARI *et al.*, 2012). Seguindo esta linha de raciocínio, as componentes de mais alta frequência do LFP estariam necessariamente associadas a atividade de neurônios relativamente próximos à ponta do eletrodo. Entretanto, outros estudos (LOGOTHETIS; KAYSER; OELTERMANN, 2007) refutam tal hipótese ao afirmar que o tecido cerebral transmite altas frequências tão bem quanto as baixas, possuindo, então, uma propriedade puramente resistiva. Isto faria com que as bandas de alta e baixa frequência possuíssem a mesma representatividade espacial.

O LFP, assim como outros sinais neurológicos (e.g.: eletroencefalograma) pode ser dividido em bandas de frequência, que podem sofrer alterações para diferentes estados do indivíduo (e.g.: sonolência, execução de tarefa motora etc.), cada uma contendo uma característica específica. Neste trabalho, a faixa utilizada foi dividida em cinco intervalos, conforme divisão convencional comumente empregada no caso do

EEG: delta (0,5-4 Hz), teta (4,5-8 Hz), alfa (8,5-14 Hz), beta (14,5-30 Hz) e gama (30,5-100 Hz) (NIEDERMEYER, 1999).

Em diferentes áreas do cérebro, o LFP apresenta características distintas. No hipocampo, por exemplo, oscilações teta são a característica mais proeminente. Acredita-se que tais oscilações sejam fundamentais em interações corticais e plasticidade sináptica, tendo papel importante na formação de memória (BERENS. P, KELIRIS. GA, ECKER. AS, LOGOTHETIS. NK, 2008). Já um outro estudo em macacos (SCHERBERGER; JARVIS; ANDERSEN, 2005) mostrou que nas regiões motoras do cérebro, o LFP apresenta fortes oscilações na banda beta relacionadas à preparação e planejamento de movimentos. Segundo Lashgari *et al.* (2012), diferentes frequências do LFP originam-se de diferentes populações de neurônios localizados em distintas camadas corticais. Portanto, cada banda representaria alguma característica inerente a um determinado processo neurofisiológico. Segundo estes autores, além de possuir seletividade à orientação, o sinal de LFP no córtex visual é sintonizado para outras diferentes propriedades do estímulo, tais como: direção do movimento, contraste, tamanho dos padrões espaciais (ou, equivalentemente, frequência espacial), fase espacial e frequência temporal (velocidade das grades do estímulo) (LASHGARI *et al.*, 2012).

Apesar de vários estudos mostrarem maior potência nas baixas frequências na presença de estímulos sensoriais (BERENS *et al.*, 2008; HENRIE; SHAPLEY, 2019), a banda gama fornece um correlato fisiológico dos fenômenos perceptivos e cognitivos, carregando grande parte das informações a respeito da resposta à estimulação (BERENS *et al.*, 2008). No contexto de seletividade à orientação, a relação da banda gama com a CS da MUA e da SUA ainda é bem controversa. A banda gama do LFP apresentou a mesma preferência de resposta que a CS registrada no mesmo sítio em alguns trabalhos (KATZNER *et al.*, 2009; JIA; SMITH; KOHN, 2011; LASHGARI *et al.*, 2012), mas não em outros (KREIMAN *et al.*, 2006; BERENS *et al.*, 2008).

O estudo realizado no V1 de macacos feito por Berens *et al.* (2008), mostrou que apenas características representadas em uma ampla escala espacial (cerca de 500 μm), tais como dominância ocular, possuem correspondência entre a banda gama do LFP e a CS da MUA. Por outro lado, a orientação preferencial, por se tratar de uma

característica representada em uma escala espacial menor (cerca de 50 μm), possui fraca correspondência entre a potência do LFP na banda gama e a CS da MUA.

Já o estudo de Lashgari *et al.* (2012) comparou diversas propriedades de resposta ao estímulo da CS da SUA com o LFP, encontrando significativa correspondência LFP/SUA na orientação e direção preferidas, não havendo similaridades quanto à simetria. A CS da SUA apresentou um comportamento mais sintonizado e estreito que a da banda gama do LFP. Apesar dos estudos de Berens *et al.* (2008) e Lashgari *et al.* (2012) terem divergido sobre a correspondência entre as orientações preferidas da SUA e da banda gama do LFP, ambos confirmaram a hipótese da banda gama ser composta por uma população local de neurônios em V1, com propriedades de repostas similares. Além disso, ambos reiteraram as propriedades passa-baixas do tecido cerebral.

Outro trabalho que relaciona a CS da MUA com o LFP no V1 de macacos é o de Jia, Smith e Kohn (2011). Neste estudo, foi encontrado um maior coeficiente de correlação de Pearson entre a potência do LFP e a CS da MUA nas bandas de alta frequência, em relação às bandas de baixa frequência. As orientações preferidas do LFP e da CS foram similares entre os sítios, divergindo de Berens *et al.* (2008), sendo que a similaridade diminuía à medida que o estímulo aumentava de tamanho (diminuição da frequência espacial). Adicionalmente, tal trabalho refuta Berens *et al.* (2008) ao afirmar que a sintonia da banda gama do LFP é similar entre diferentes sítios devido à formação de um ritmo coerente e espacialmente abrangente (cerca de 0,5-1mm) na banda gama.

Por outro lado, o trabalho de Katzner *et al.* (2009) realizado no V1 de gatos também compara as orientações preferenciais da CS da MUA com a banda gama do LFP. Neste estudo, são encontrados sítios não sintonizados, para os quais sequer é notada uma orientação preferencial na banda gama, e outros com alta seletividade à orientação, com mesma orientação preferencial para a banda gama do LFP e a CS da MUA.

2.3 O *wulst* visual de corujas

Para estudar a SO a partir de sinais neurológicos são necessários dados experimentais. Como a obtenção do LFP, ao contrário do EEG, necessita de registro invasivo no cérebro, é comum o emprego de experimentação com animais, uma vez que

registros invasivos em humanos ocorrem somente em raras exceções. Assim, para que se possa analisar a SO, característica presente no córtex visual de humanos, escolhe-se um modelo animal que apresente características fisiológico-funcionais similares. Este é o caso das corujas, animal adotado neste trabalho, sendo os motivos da escolha detalhados adiante.

Diversos estudos presentes na literatura mostram a existência de SO visual em vários animais. Durante as décadas de 60 e 70, Hubel e Wiesel observaram a seletividade à orientação através de medições eletrofisiológicas em gatos (HUBEL; WIESEL, 1962) e macacos (HUBEL; WIESEL, 1977). Posteriormente, foi encontrada a SO em ratos (DRÄGER, 1975; KONDO; OHKI, 2016), coelhos (BARLOW; HILL; LEVICK, 1964), saguis (CHEONG *et al.*, 2013) e em diversas aves (PETTIGREW; KONISHI, 1976; WANG; FROST, 1991).

Entretanto, apesar de estar presente no sistema visual de vários animais, a SO possui diferenças entre as espécies. Em coelhos, por exemplo, ela pode ser observada já nas células da retina (BARLOW; HILL; LEVICK, 1964), o que não acontece em outros animais como macacos, onde a seletividade aparece apenas em V1 (HUBEL; WIESEL, 1977). Em ratos, por outro lado, a seletividade é mais fraca do que em gatos e diminui sua intensidade entre o núcleo geniculado lateral e o V1, ao contrário do que acontece em gatos e macacos, para os quais a intensidade da seletividade aumenta neste trajeto (SCHOLL *et al.*, 2013). Além disso, o córtex visual de ratos não possui um padrão de segregação funcional por camada, como existente em carnívoros e primatas. Nos ratos, células simples e complexas são distribuídas igualmente entre as camadas corticais, enquanto nos primatas os neurônios na entrada da camada IV tendem a ser células simples e aqueles nas camadas mais superficiais tendem a ser células complexas (PRIEBE, 2016). Desta forma, fica evidente que alguns animais possuem sistemas visuais muito diferentes do humano (e.g.: coelhos e roedores), o que os tornam inadequados como modelo visando a extrapolações para primatas e, particularmente, humanos.

Por outro lado, existem diversos estudos que indicam que a coruja possui um sistema visual desenvolvido, havendo similaridades com o de humanos. Van Der Willigen, Frost e Wagner (2002), por exemplo, mostraram alta capacidade de percepção de profundidade em corujas, utilizando estereopsia (diferenças entre as imagens

captadas por cada olho) e paralaxe do movimento (o animal realiza movimentos sacádicos de cabeça a fim de obter informações de objetos em diferentes distâncias), indicando sua habilidade de formação de imagens tridimensionais no cérebro. Em continuidade a este estudo, Van der willigen, R. F.; Frost e Wagner (2003) construíram uma representação tridimensional no cérebro de corujas, a partir de duas imagens bidimensionais, concluindo que as mesmas conseguem segregar o fundo de uma figura, com percepção da profundidade na imagem. O grande tamanho dos olhos também é um indício da importância da visão para estes animais, que possuem um globo ocular grande em relação ao tamanho do seu crânio (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Além disso, comparando com outras aves, as corujas possuem uma área telencefálica visual, chamada de *wulst*, que ocupa cerca de um quarto do cérebro (KARTEN *et al.*, 1973).

Neste contexto, Nieder e Wagner (1999) realizaram registros no *wulst* visual de corujas e verificaram que algumas regiões possuem neurônios que disparam em uma taxa maior quando são apresentados estímulos com contornos subjetivos (como por exemplo na Figura 2.4), característica também encontrada no córtex visual de primatas. Logo, as corujas, assim como os humanos são capazes de perceber contornos ilusórios.

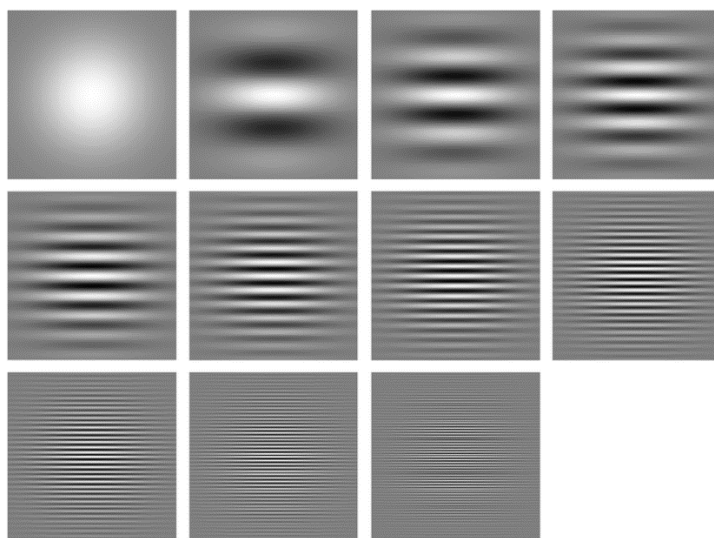


Figura 2.4 Estímulo de Gabor composto por contornos ilusórios utilizados por Nieder e Wagner (1999), imagem extraída de Watson; Ramirez; Salud (2009).

Uma das principais vantagens que as corujas oferecem como modelo animal é que elas não necessitam da monitoração do movimento ocular durante o experimento, uma vez que estes tais movimentos são mínimos (STEINBACH, ANGUS e MONEY, 1974) , ao contrário do que acontece em mamíferos. Isto é importante, pois garante que,

uma vez fixada a cabeça, os campos receptivos se mantêm estáticos, facilitando seu mapeamento. Por fim, a coruja apresenta seletividade à orientação no *wulst* visual, tendo sido descoberta na década de 70 por Pettigrew e Konishi (1976) e também estudada em outros trabalhos mais recentes (BARON *et al.*, 2007; AMORIM, 2011, 2016).

As aves, assim como os mamíferos, possuem duas vias paralelas de processamento visual: a tectofugal e a talamofugal. Na maioria das aves, como pombos e galinhas, a via tectofugal é a principal via de processamento visual (SHIMIZU; BOWERS, 1999). Nestes animais, a maior parte das projeções da retina faz parte da via tectofugal, a qual parte da retina em direção ao teto óptico e, a partir daí, se projeta para o núcleo *rotundus* do tálamo (SHIMIZU; BOWERS, 1999). Já na via talamofugal, as fibras saem da retina e se projetam para o núcleo geniculado lateral no tálamo, de onde partem para o *wulst* no telencéfalo. Diferentemente de outras aves, as corujas possuem a via talamofugal como principal meio de transmissão visual, assim como ocorre nos mamíferos (KARTEN *et al.*, 1973). De fato, tal descoberta fez da coruja um animal ainda mais adequado para análise visando à comparação com o sistema visual humano.

Por fim, o *wulst* visual recebe a maior parte das projeções talâmicas, sendo muito mais desenvolvido nas corujas em relação às outras aves (KARTEN *et al.*, 1973). Tal parte do cérebro possui diversas semelhanças com o córtex visual V1 em mamíferos, sendo as principais delas: neurônios seletivos para orientação e movimento (PETTIGREW; KONISHI, 1976), campos receptivos organizados retinotopicamente, seletividade para disparidade binocular (NIEDER; WAGNER, 2000) e sensibilidade ao contraste (HARMENING *et al.*, 2009). Um fato intrigante, entretanto, é que apesar dessa semelhança funcional, o *wulst* e o V1 são duas estruturas anatomicamente distintas. Ambos possuem colunas de orientação, porém tais colunas são maiores no *wulst*. Além disso, células piramidais, muito comuns no V1, não são encontradas no *wulst*, onde há a predominância de células estreladas (BARON *et al.*, 2007).

Desta forma, em uma perspectiva mais ampla, o estudo do *wulst* visual pode ajudar a entender os mecanismos relacionados ao processamento visual no cérebro humano, mais especificamente o fenômeno de seletividade à orientação. O animal empregado no presente estudo foi a coruja da espécie *Tyto Alba*, também conhecida

como coruja-da-igreja, que corresponde a parte da casuística investigada em BARON *et al.* (2007).

2.4 Técnicas aplicadas à análise do LFP e SUA

Diversas técnicas e métricas estatísticas já foram usadas para analisar as relações entre a CS e o LFP. As métricas baseadas em potência espectral, por exemplo, visam analisar se parâmetros da CS estão presentes na estimativa de potência do LFP, já tendo sido empregadas em diversos estudos (BERENS *et al.*, 2008; BERENS. P, KELIRIS. GA, ECKER. AS, LOGOTHETIS. NK, 2008; KATZNER *et al.*, 2009; JIA; SMITH; KOHN, 2011; LASHGARI *et al.*, 2012; PATRIOTA, 2019). Grande parte das evidências mostram que a banda gama possui maior similaridade CS/LFP (JIA; SMITH; KOHN, 2011; LASHGARI *et al.*, 2012; PATRIOTA, 2019), apesar de alguns estudos refutarem tal hipótese (BERENS *et al.*, 2008; BERENS. P, KELIRIS. GA, ECKER. AS, LOGOTHETIS. NK, 2008).

Por outro lado, métricas baseadas na fase podem fornecer informação sobre o sincronismo entre os disparos de PAs e as oscilações do LFP, mostrando como as SUAs são ponderadas e integradas, resultando no LFP. Assim, tais métricas podem ser úteis na avaliação da sincronização dos ritmos neuronais para uma dada banda de frequência (ZAREI; JAHED; DALIRI, 2018). Dentre as métricas que incluem informação de fase já empregados em estudos prévios, pode-se citar: coerência (CARTER; KNAPP; NUTTALL, 1973; SRINATH; RAY, 2014), *spike field coherence* (SFC) (GRASSE; MOXON, 2010; LEPAGE; KRAMER; EDEN, 2011), *phase locking value* (PLV) (JEAN-PHILIPPE *et al.*, 1999), *pairwise phase consistency* (PPC) (VINCK *et al.*, 2010) e *spike triggered correlation matrix synchronization* (SCMS) (LI; CUI; LI, 2016; LI; GAO; WANG, 2019).

A coerência é uma técnica reportada em trabalhos desde as décadas de 60 e 70 (O.; AMOS; KOOPMANS, 1963; CARTER; KNAPP; NUTTALL, 1973). Seu primeiro uso para a identificação de frequências que contribuem significativamente para o potencial evocado (EEG durante estimulação) foi feito por Dobie; Wilson (1989). Posteriormente, a coerência, foi aplicada a sinais de origem neuronal em diferentes contextos, como por exemplo: avaliação do sistema auditivo (FELIX, 2006), detecção de imaginação de movimento (imagética motora) (SANTOS FILHO *et al.*, 2009), identificação de resposta à estimulação sensorial somática para monitorização intra-

operatória (INFANTOSI; MIRANDA DE SÁ, 2006; MELGES, 2009), dentre outras. No LPF, as aplicações da coerência também são diversas. Em um destes estudos, realizado com macacos durante estimulação visual (LEOPOLD; LOGOTHETIS, 2003), observou-se que a coerência do LFP entre sítios cai rapidamente com o aumento da distância e para frequências mais elevadas deste sinal. Isto foi interpretado como um indício de atividade sincronizada entre populações corticais e forneceu informações sobre a extensão espacial do LFP.

Outro estudo que emprega a coerência entre sítios do LFP foi o de Jia; Smith e Kohn (2011) que sugeriram que a sintonia no LFP surge a partir de ritmos compartilhados por estes sítios. O mesmo estudo ainda verificou que estímulos compostos por grades maiores induzem um ritmo único e global proeminente na banda gama, pois foi encontrada uma maior coerência espectral nestas condições.

Apesar de ter sido a primeira métrica utilizada para avaliar a sincronização PA/LFP, a coerência pode não ser a mais adequada para sinais não lineares ou não estacionários, porque possui viés na estimativa de potência (ZAREI; JAHED; DALIRI, 2018). Por este motivo, novas técnicas têm sido propostas como medida de sincronização PA/LFP (ZAREI; JAHED; DALIRI, 2018) e são descritas detalhadamente a seguir.

O *spike field coherence* (SFC) fornece uma relação de fase entre dois sinais no domínio da frequência. Esta métrica é capaz de refletir as características de taxa média de disparos, bem como a relação de fase entre a MUA e o LFP (LEPAGE; KRAMER; EDEN, 2011). Embora sua descrição qualitativa seja de fácil compreensão fisiológica, há diferentes modos de estimá-la descritos na literatura (GRASSE; MOXON, 2010). Um exemplo de definição pode ser encontrada em Fries *et al.* (2008) que utilizaram uma abordagem em que o SFC contém valores entre 0 e 1 para uma dada frequência. Valores de SFC próximos de 1 indicam que todos os PAs associados a esta frequência devem ocorrer com a mesma fase. Por outro lado, baixos valores de SFC acontecem quando a ocorrência do PA é considerada dispersa e dissociada do LFP. Um exemplo em que a SFC se aproxima da unidade, ocorre quando neurônios são ativados por um determinado estímulo capaz de induzir uma estrutura temporal (sincronismo) no disparo de potenciais de ação. Desta forma, o SFC avalia o quão acoplado no tempo estão as ocorrências dos PAs e a fase do LFP para uma dada frequência.

A métrica estatística *Phase Locking Value* (PLV) foi definida por Jean-Philippe *et al.* (1999), sendo usada para detectar sincronismo em uma dada faixa de frequências entre dois sítios. O PLV está relacionado com a variação entre a diferença de fase de dois sinais ao longo de vários ensaios (*trials*). Assim como o SFC, o PLV próximo a 1 indica que a ocorrência dos PAs está acoplada em fase com o LFP em uma dada banda, enquanto para PLV próximo a 0, assume-se que os PAs estão espalhados aleatoriamente. O PLV já foi aplicado em muitos sinais, tais como EEG e MEG (magneto encefalograma) (MANLEY, 2013). Particularmente no contexto do LFP, ele foi empregado por Zhang *et al.* (2016) em um estudo de tarefas de recompensa com macacos para analisar a conectividade entre duas regiões distintas do cérebro (córtex pré-frontal e estriado). Outros estudos compararam o PLV com outras técnicas já existentes, como a coerência (LOWET *et al.*, 2016) e correlação cruzada entre sinais (AYDORE; PANTAZIS; LEAHY, 2013).

Entretanto, apesar de muito utilizadas, técnicas de sincronização como o PLV e o SFC possuem um problema; ambas são enviesadas pela taxa de disparos de PAs ou pelo número de *trials*, o que pode atrapalhar a comparação de resultados oriundos de diferentes experimentos ou mesmo entre diferentes neurônios (VINCK *et al.*, 2010). Assim, duas métricas estatísticas foram propostas nos últimos anos para resolução desse problema: *Pairwise Phase Consistency* (PPC) e *Spike-triggered Correlation Matrix Synchronization* (SCMS) (LI; CUI; LI, 2016).

O PPC, proposto por Vinck *et al.* (2010), calcula a semelhança entre a fase relativa observada em duas *trials* distintas e já foi utilizado para avaliar a sincronização do LFP na banda gama e disparos de PAs, tanto em V1 como em V4 de macacos, visando investigar a SO (LI; CUI; LI, 2016). A principal desvantagem do PPC é que, embora ela seja baseada em um estimador consistente, sua performance é deteriorada na presença de ruído no canal de registro.

O método SCMS foi proposto por Li; Cui; Li (2016) e tem como ideia principal segmentar o LFP em janelas centradas no instante de ocorrência de cada PA e medir o grau de sincronismo entre essas janelas usando o PLV. A principal vantagem em relação ao PPC é a robustez contra ruídos. Segundo Li; Gao e Wang (2019), tanto o PPC quanto o SCMS são métricas com alta capacidade de identificar seletividade à orientação, tendo se mostrado promissoras para a análise deste fenômeno.

Uma das distribuições estatísticas mais usadas na literatura para análise de SO é a função *Von Mises*, sendo ela empregada como modelagem matemática para as curvas de sintonia em coordenadas polares. Segundo Batschelet (1981), *Von Mises* é definida como uma função densidade de probabilidade circular contínua. Ela é a analogia circular da distribuição gaussiana, pois compartilham diversas propriedades. Além disso, segundo Swindale (1998), a função *Von Mises* se aproxima de uma gaussiana dentro de uma faixa de valores biologicamente possíveis, sendo o melhor modelo de ajuste para a curva de sintonia da SUA. Por esta razão, ela já foi utilizada em diversos estudos sobre seletividade à orientação (LIU; NEWSOME, 2006; BARON *et al.*, 2007; BERENS *et al.*, 2008; LASHGARI *et al.*, 2012; AMORIM, 2016).

Outra técnica já utilizada para estudar a SO é a correlação reversa, proposta por Ringach, Hawken e Shapley (1997) em um estudo feito em macacos e também utilizada por Amorim, C. S. (2016) no *wulst* visual de corujas. Segundo Amorim, C. S. (2016), tal método permite avaliar a dinâmica temporal da SO, possibilitando a compreensão das mudanças transitórias de circuitos corticais.

3 Materiais e Métodos

Neste capítulo, serão apresentados o protocolo experimental para a aquisição de sinais LFP, as etapas de pré-processamento de sinal, bem como as técnicas de processamento empregadas neste trabalho.

3.1 Aquisição de sinais LFP e SUA

Os experimentos e registros de sinais descritos a seguir foram realizados no Laboratório de Neurodinâmica da Visão (LANEVI) do ICB/UFMG, coordenado pelo Prof. Jerome Baron e são descritos mais amplamente em Amorim (2016). Todos os protocolos e experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA: 53/2011).

Os registros eletrofisiológicos extracelulares foram realizados por meio de um dispositivo multieletrodos desenvolvido no Instituto Max-Planck (Alemanha), fabricante Thomas Recording, com as seguintes especificações técnicas: impedância de 0,3 a 0,7 M Ω em 1 kHz; diâmetro do corpo dos eletrodos de 80 μ m; diâmetro da ponta dos eletrodos de cerca de 2 μ m.

Uma vez registrado, o sinal foi amplificado, com ganho de 1000, por meio de um amplificador de 32 canais Plexon®, e filtrado em banda de 0,3 kHz – 7 kHz (headset HST/16o25). A digitalização do sinal foi feita por uma placa A/D de 16 bits de resolução, com recursos de trigger e temporizador PCI-6259 da *National Instruments* (Austin, Texas, EUA).

Os sinais de LFPs foram coletados de 106 sítios do *wulst* visual de 13 corujas sedadas (espécie *Tyto Alba*) filtrados por um passa-faixas de 0,7-170Hz e amostrados a uma taxa de 1 kHz, ou seja, registrou-se mais de um sítio para algumas corujas. Cabe destacar que, neste trabalho, a análise foi realizada com base nos registros de cada sítio e não agrupado por coruja, pois sítios distintos da mesma coruja podem ter comportamentos diferentes.

No mesmo experimento, paralelamente à coleta do LFP, também foi registrada a MUA de um conjunto de células, filtrada por passa faixa de 0,7–6 KHz, a qual foi

amostrada a uma taxa de 32 kHz. A partir da MUA, após a aplicação de um algoritmo de *spike sorting*, foi possível individualizar os PAs de cada célula, obtendo o instante de ocorrência de cada PA de cada célula registrada pela MUA.

Como estímulo foram utilizadas grades senoidais (*gratings*), que são listras brancas e pretas alternadas (Figura 3.1), cuja orientação variou de 0-360° com passos de 22,5°, sendo obtidos 9 ensaios (*trials*) para cada uma das 16 possíveis orientações (Figura 3.1). Cada ensaio apresentou duração de 3 segundos, onde os 500 ms iniciais e finais foram coletados na ausência de estimulação visual e o restante na presença de estímulo. O fundo de tela apresentava uma luminância equivalente à média de luminância das grades senoidais (~ 50,0 cd/m²).

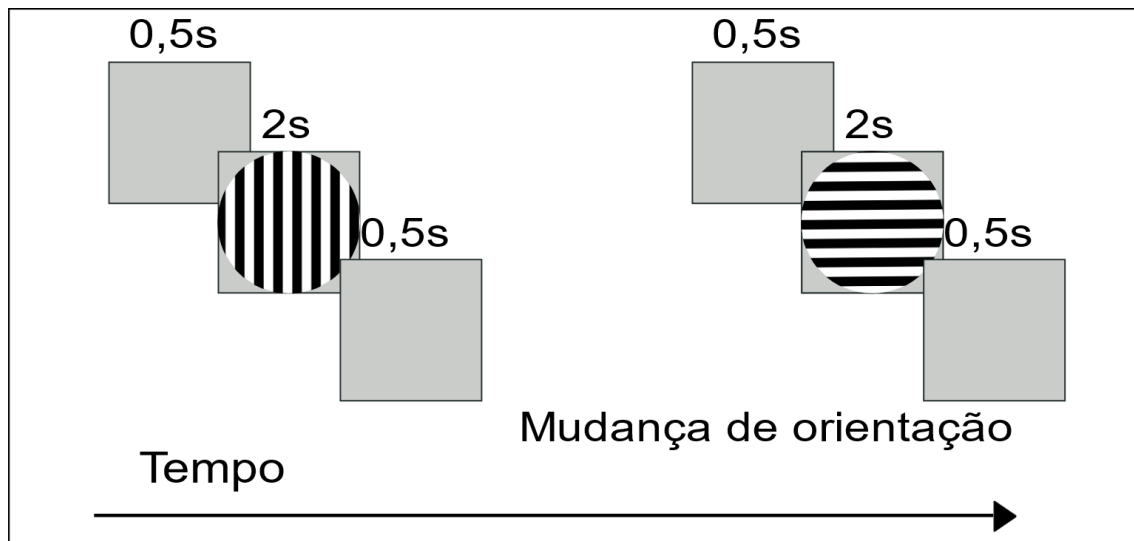


Figura 3.1 Exemplo de estímulo formado por grades senoidais.

3.2 Pré-processamento

Após a obtenção do LFP, foi constatada a presença de harmônicos oriundos da rede elétrica, principalmente nas frequências de 60 e 180 Hz. Estes foram retirados com a aplicação de dois filtros *notch* Butterworth de segunda ordem, fase nula em cascata.

3.3 Processamento

Nesta seção, são descritas as diferentes técnicas no domínio da frequência a serem investigadas quanto à sua capacidade de reproduzirem a CS, bem como os índices de seletividade a serem aplicados a tais técnicas.

3.3.1 Potência

A estimativa da densidade espectral de potência pode ser calculada de diversas formas, por meio do periodograma, correlograma e mesmo com métodos paramétricos. Neste trabalho, foi obtida uma estimativa da mesma para cada ângulo de estimulação, utilizando-se o Periodograma de Bartlett (BARTLETT, 1948), matematicamente descrito por:

$$\hat{P}_y(f) = \frac{1}{M_y} \sum_{i=1}^{M_y} |Y_i(f)|^2 \quad (3.1)$$

onde Y_i corresponde à Transformada Discreta de Fourier da i -ésima janela e M_y o número de janelas para um dado ângulo de estimulação. O somatório da densidade espectral de potência em um intervalo de frequência fornece a estimativa da potência obtida para esta determinada banda (KAY, 2006).

Com o intuito de analisar as possíveis relações entre o LFP e a SUA, foram seguidas as etapas de processamento descritas no diagrama de blocos da Figura 3.2. Primeiramente foi calculada a potência - conforme equação 3.1 - na presença de estímulo junto com a CS do sítio em coordenadas polares para cada banda (delta: 0,5-4 Hz, teta: 4,5-8 Hz, alfa: 8,5-14 Hz, beta: 14,5-30 Hz e gama: 30,5-100 Hz) e cada ângulo de orientação de estímulo. Dado que a banda gama é muito ampla, a potência também foi calculada para gama baixa (30,5-60 Hz) e gama alta (60,5-100 Hz) visando a avaliar diferenças intra-banda. Esta divisão em bandas foi empregada para todas as técnicas avaliadas neste trabalho. Foram empregadas $M_y = 9$ janelas (número mínimo de *trials* encontrado para cada orientação). Ambas as curvas, CS e Potência foram normalizadas pelo seu valor máximo.

Visando a quantificar a similaridade entre a CS e curva de potência do LFP, foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre elas para todos os sítios estudados. Por fim, o *Spearman Rank Correlation Test* (SRCT) foi aplicado às curvas CS e potência em cada banda, com vistas a avaliar a correlação entre elas. Para tanto, o SRCT assume como hipótese nula (H_0) a ausência de correlação entre as duas variáveis. Havendo rejeição de H_0 , podemos supor que há correlação entre as curvas. Este teste calcula um valor p associado ao coeficiente de correlação de Spearman e, caso este

valor seja inferior a um nível de significância pré-estabelecido (0,05 neste trabalho), assume-se que o sítio possui coeficiente de correlação significativo (KANJI, 2012).

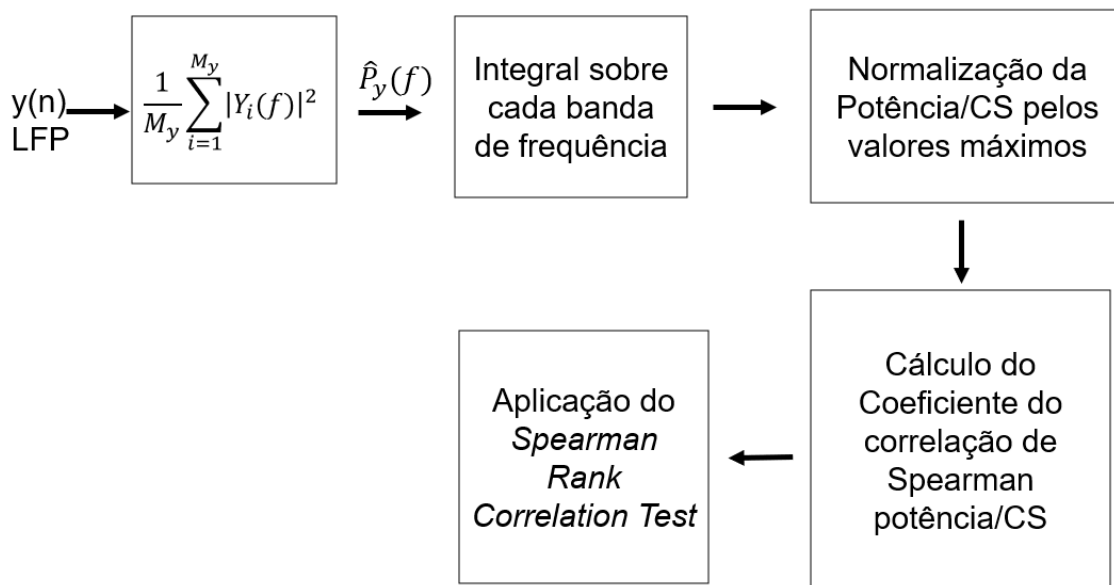


Figura 3.2 Diagrama de blocos com as etapas de processamento para comparação entre a potência do LFP e a SUA.

3.3.2 Teste *F* espectral (TFE)

O Teste *F* espectral (TFE) é uma técnica de detecção objetiva de resposta (ORD, do inglês *Objective Response Detection*) que visa avaliar por meio de teste estatístico se houve ou não variação de potência em uma dada frequência de um sinal durante a apresentação de um estímulo sensorial. Para a realização do TFE, uma única condição deve ser atendida: a magnitude das partes real e imaginária, em uma dada frequência, deve apresentar uma distribuição normal, tanto na ausência quanto na presença de estímulo. Assim, sendo $x[k]$ o LFP na ausência de estimulação e $y[k]$ durante a estimulação, e considerando M_y e M_x o número de janelas do sinal na presença e ausência de estimulação, respectivamente, o TFE pode ser calculado por (FERNANDO; INFANTOSI; LAZAREV, 2005; DOBIE *et al.*, 2007):

$$\hat{\phi}(f) = \frac{\frac{1}{M_y} \sum_{i=1}^{M_y} |Y_i(f)|^2}{\frac{1}{M_x} \sum_{i=1}^{M_x} |X_i(f)|^2} \quad (3.2)$$

Onde $X_i(f)$ e $Y_i(f)$ são as Transformadas Discretas de Fourier da i -ésima janela dos sinais $x[k]$ e $y[k]$, respectivamente. Note que o numerador e o denominador da equação (3.2) são as respectivas estimativas das densidades espectrais de potência dos sinais de LFP com e sem estímulos. Além disso, como se pode notar pela equação (3.2), o TFE é calculado usando apenas a magnitude do sinal, desconsiderando-se a fase. Assim, o TFE permite avaliar se houve variação de potência no sinal devido ao estímulo para uma dada frequência f . Como o objetivo deste trabalho é analisar se esta variação ocorreu para uma banda, a equação (3.2) foi expandida para:

$$\hat{\phi}_{xy}(B) = \frac{\sum_{f=f_1}^{f_2} \left[\frac{1}{M_y} \sum_{i=1}^{M_y} |Y_i(f)|^2 \right]}{\sum_{f=f_1}^{f_2} \left[\frac{1}{M_x} \sum_{i=1}^{M_x} |X_i(f)|^2 \right]} \quad (3.3)$$

onde f_1 e f_2 correspondem, respectivamente, às frequências que delimitam determinada banda B.

De acordo com Miranda de Sá *et al.* (2006), assumindo que não houve variação de potência devido ao estímulo (Hipótese Nula de ausência de resposta H_0), e que, neste caso, $x[k]$ e $y[k]$ correspondem a ruídos brancos gaussianos e de média zero, pode-se demonstrar que $\frac{M_x}{M_y} \hat{\phi}_{xy}$ segue uma função densidade de probabilidade F , com $2N_{bx}M_x$ e $2N_{by}M_y$ graus de liberdade, sendo N_{bx} e N_{by} , respectivamente, o número de amostras dos sinais $x[k]$ e $y[k]$ em determinada banda. Neste caso, para uma taxa de falsos positivos pré-estabelecida α , uma alteração estatisticamente significativa na potência pode ser detectada a partir de valores críticos calculados para esta distribuição, como segue:

$$\begin{cases} \phi_{critInf} = F_{crit2N_{by}M_y, 2N_{bx}M_x, \alpha} \\ \phi_{critSup} = F_{crit2N_{by}M_y, 2N_{bx}M_x, 1-\alpha} \end{cases} \quad (3.4)$$

sendo $\phi_{critInf}$ e $\phi_{critSup}$, respectivamente os valores críticos inferior e superior para $\hat{\phi}_{xy}(f)$. Assim, caso $\hat{\phi}_{xy}(f)$ supere $\phi_{critSup}$ ou seja menor do que $\phi_{critInf}$ em uma banda, assume-se ter ocorrido uma alteração de potência estatisticamente significativa (rejeição da Hipótese Nula de ausência de variação de potência devido ao estímulo). Cabe salientar que, como cada banda possui um número distinto de raias (quantidade de amostras no domínio da frequência), os valores críticos são diferentes para cada banda.

De forma análoga ao que foi feito para a análise baseada em potência, os seguintes passos foram realizados (Figura 3.3): i) cálculo do TFE e seus valores críticos, para cada banda e orientação, conforme equações (3.3) e (3.4), utilizando $M_y = M_x = 9$ janelas; ii) cálculo dos coeficientes de correlação de Spearman entre o TFE e CS para cada banda e cada sítio; iii) aplicação do SRCT para avaliar se os sítios possuem ou não uma correlação significativa.

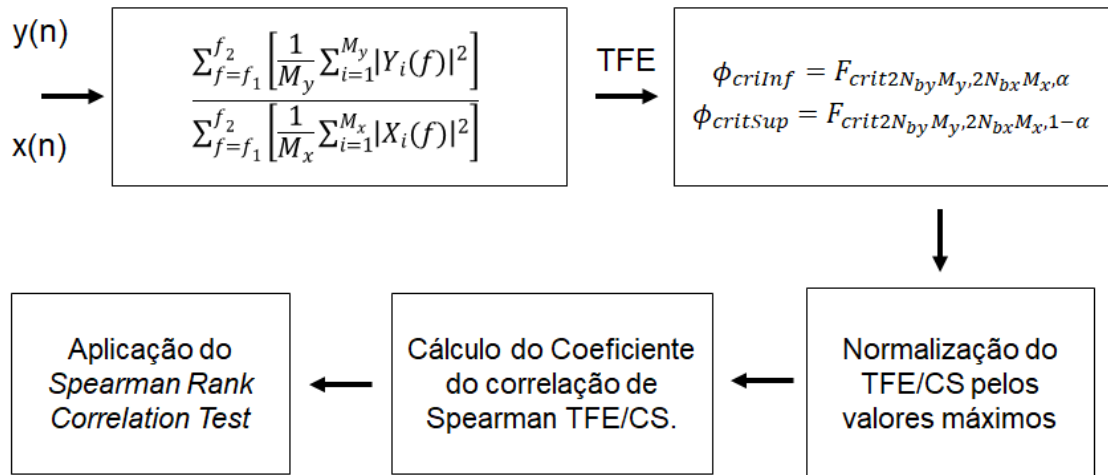


Figura 3.3 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar TFE do LFP com a SUA.

3.3.3 Magnitude Quadrática da Coerência (MSC)

Assim como o TFE, a Magnitude Quadrática da Coerência (MSC, do inglês *Magnitude-Squared Coherence*) também é uma técnica ORD que visa a avaliar, por meio de teste estatístico, se houve ou não variação no espectro de um sinal durante a apresentação de estímulo sensorial em uma dada frequência. Diferente do TFE que analisa apenas a variação de potência, a MSC emprega tanto a informação de magnitude quanto de fase do sinal (MELGES; MIRANDA DE SÁ; CATELLI INFANTOSI, 2012). Desta forma, a MSC pode ser estimada por (DOBIE; WILSON, 1989):

$$\gamma_{yx}^2(f) = \frac{|\sum_{i=1}^M Y_i(f) * S_i^*(f)|^2}{\sum_{i=1}^M |Y_i(f)|^2 * \sum_{i=1}^M |S_i(f)|^2} \quad (3.5)$$

onde M é o número de janelas e $Y_i(f)$ e $S_i(f)$ as Transformadas Discretas de Fourier da i -ésima época do sinal de LFP ($y[k]$) registrada durante estimulação $s[k]$. O numerador da equação (3.5) é chamado também de espectro cruzados dos sinais $y[k]$ e $s[k]$, enquanto o denominador é o produtos dos auto espectros (CARTER; KNAPP; NUTTALL, 1973).

Cabe salientar que para o cálculo da coerência como técnica de detecção, é feita uma simplificação, que se deve à assunção de duas condições: i) o estímulo ser periódico e idêntico em todas as janelas (*trials*); ii) o LFP na ausência de estimulação corresponde a um ruído branco gaussiano. A primeira condição é garantida pelo protocolo experimental, enquanto a segunda foi verificada por meio do teste de normalidade (*Lilliefors test*). Assim a estimativa da MSC depende apenas de $Y_i(f)$, conforme mostra a equação (3.6), já que a contribuição do sinal periódico se cancela (MELGES; MIRANDA DE SÁ; CATELLI INFANTOSI, 2012).

$$\hat{k}^2(f) = \frac{|\sum_{i=1}^M Y_i(f) S_i(f)|^2}{M \sum_{i=1}^M |Y_i(f) S_i(f)|^2} = \frac{S^2(f) |\sum_{i=1}^M Y_i(f)|^2}{M S^2(f) \sum_{i=1}^M |S_i(f)|^2} \quad (3.6)$$

Desta forma, a estimativa da MSC como técnica de detecção pode ser calculada por:

$$\hat{k}^2(f) = \frac{|\sum_{i=1}^M Y_i(f)|^2}{M \sum_{i=1}^M |Y_i(f)|^2} \quad (3.7)$$

A MSC calculada conforme a equação (3.7) permite avaliar a variação no espectro do sinal devido ao estímulo em cada frequência f . De forma análoga ao que foi feito para o TFE, a fim de analisar se esta variação no espectro ocorreu em uma dada banda, a equação (3.7) foi expandida para:

$$\hat{k}^2(B) = \sum_{f=f_1}^{f_2} \frac{|\sum_{i=1}^M Y_i(f)|^2}{M \sum_{i=1}^M |Y_i(f)|^2} \quad (3.8)$$

sendo f_1 e f_2 as frequências que delimitam determinada banda B . Assim, pode-se dizer que a equação (3.10) corresponde a soma dos coeficientes de coerência para frequências contidas em uma dada banda.

Assim, a MSC foi calculada para cada banda e orientação, conforme equação (3.8), utilizando $M = 9$ janelas e comparada a CS por meio do coeficiente de correlação de Spearman e do SRCT, conforme mostra a Figura 3.4.

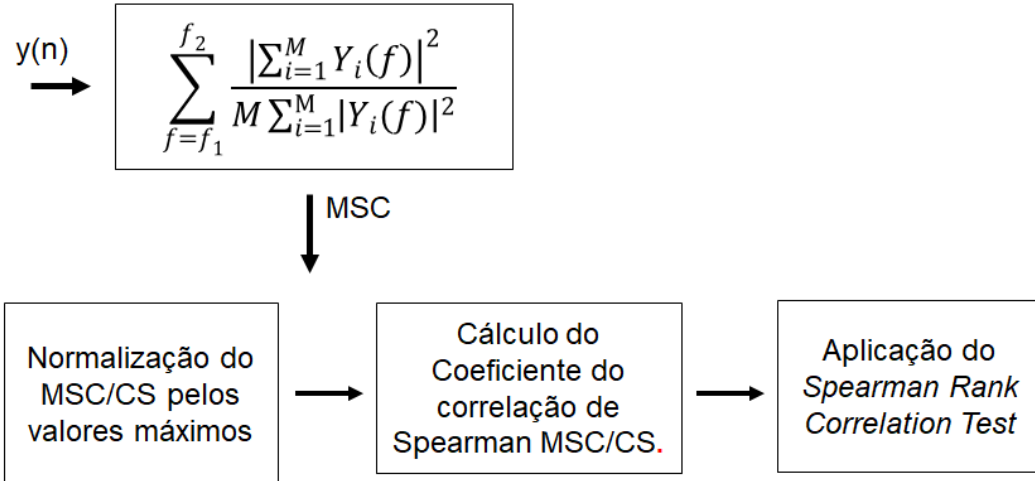


Figura 3.4 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar MSC do LFP com a SUA.

3.3.4 Phase Locking Value (PLV)

O PLV, técnica baseada na fase, também pode ser usado para avaliar a similaridade entre a CS da SUA e o LFP. Ele difere do TFE e da MSC por utilizar apenas a fase do sinal de LFP e negligenciar a magnitude.

Neste trabalho, o PLV foi calculado por:

$$PLV(f) = \frac{1}{M} \left| \sum_{i=1}^M e^{j\theta_i(f)} \right| \quad (3.9)$$

Onde M é o número de janelas e $\theta_i(f)$ é a fase da Transformada de Fourier da i -ésima janela do sinal de LFP na presença de estímulo para uma dada frequência f . Neste estudo, o PLV foi estimado de forma distinta de sua definição original dada por JEAN-PHILIPPE *et al.* (1999) e empregada em outros estudos (AYDORE; PANTAZIS; LEAHY, 2013), nos quais esta métrica é calculada a partir da fase instantânea obtida por meio da Transformada Discreta de Hilbert. De acordo com a equação (3.9), o PLV é calculado em função da frequência e permite quantificar o sincronismo do LFP com o estímulo. Valores de PLV próximos a 1 indicam que, em uma dada frequência, a fase do

LFP permanece a mesma em diferentes janelas do sinal. Por outro lado, valores de PLV próximo a zero mostram que a fase do LFP apresenta valores aleatórios em cada janela.

O PLV foi calculado conforme equação (3.9), utilizando $M = 9$ janelas. E, com o intuito de se obter uma abordagem por banda, conforme realizado para outras técnicas, foram calculados os parâmetros média, variância e *fanofactor* (divisão da variância pela média) das amostras do PLV em cada banda. Posteriormente, os mesmos procedimentos realizados para potência, TFE e MSC foram reproduzidos para estes parâmetros (Figura 3.5), calculando-se os coeficientes de correlação de Spearman entre a CS e cada parâmetro de PLV, seguido da aplicação do SRCT para avaliar se esses coeficientes são ou não significativos.

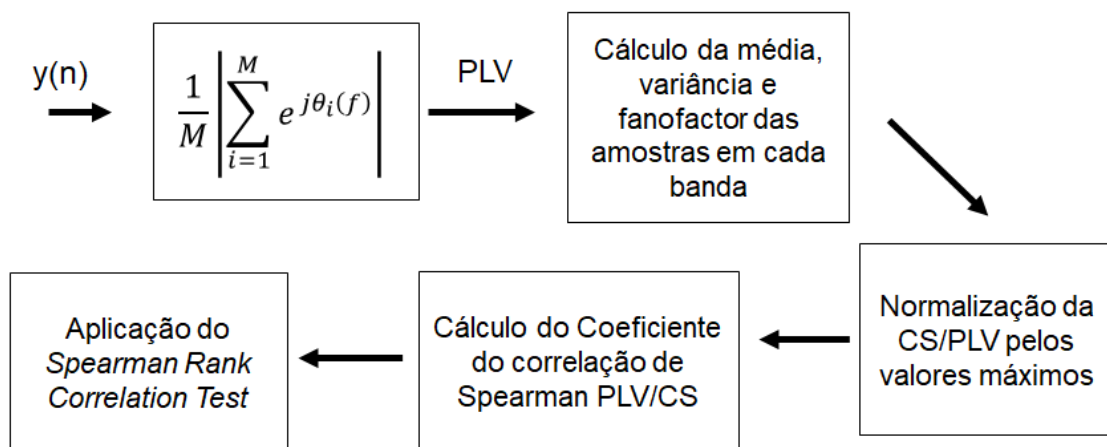


Figura 3.5 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar PLV do LFP com a SUA.

3.3.5 Spike-triggered Correlation Matrix Synchronization (SCMS)

A SCMS permite estimar o grau de sincronismo entre o LFP e os PAs ocorridos em determinada janela e, assim como o PLV, a SCMS negligencia informações sobre a magnitude do espectro de frequências. Seu cálculo é feito utilizando apenas a variação de fase do sinal de LFP e o tempo de ocorrência dos PAs (LI; CUI; LI, 2016).

Assim como o PLV, o SCMS também possui seus resultados dentro de um intervalo entre 0 e 1, sendo que, quanto mais próximo de 1 o valor de SCMS mais elevada é a sincronização LFP/PAs. Cabe salientar que o SCMS difere do PLV calculado neste trabalho, pois o PLV estima o sincronismo do sinal de LFP com o estímulo, enquanto o SCMS calcula a sincronização LFP/PAs. Além disso, o PLV é

uma técnica *inter-trial*, ou seja, seu processamento utiliza informações de diferentes janelas (*trials*). Por outro lado, o SCMS é uma medida *intra-trial*, pois todo o seu processamento é feito dentro uma única janela do LFP.

Para o cálculo do SCMS, os seguintes passos devem ser seguidos (LI; CUI; LI, 2016), sendo eles resumidos e esquematizados no diagrama de blocos da Figura 3.6:

1. Filtragem do sinal de LFP em uma banda desejada. Neste trabalho foi utilizado um filtro Butterworth passa-faixa e fase nula de segunda ordem, em cada banda descrita na seção 3.3.1 (delta, teta, alfa, beta, gama, gama baixa e gama alta).
2. Extração de segmentos de LFP de 20 ms centradas no instante de disparo do potencial de ação da respectiva janela. Cada ocorrência de PA em determinada janela formará um segmento de LFP.
3. Cálculo da fase instantânea de cada segmento, a partir da Transformada Discreta de Hilbert. Cabe salientar que a filtragem realizada na primeira etapa é imprescindível no algoritmo, pois a TDH possui bom desempenho apenas para sinais de banda estreita (PIERSOL; BENDAT, 2011).
4. Cálculo da matriz de correlação C , de dimensões $m \times n$, a partir dos coeficientes c_{mn} :

$$c_{mn} = \frac{1}{L} \left| \sum_{i=1}^L e^{j(\varphi_m(t_i) - \varphi_n(t_i))} \right| \quad (3.10)$$

onde $\varphi_m(t_k)$ e $\varphi_n(t_k)$ correspondem, respectivamente, à fase do m -ésima e n -ésima segmento de LFP, t_i é o instante de tempo correspondente à i -ésima amostra do segmento e L é o número de amostras de cada segmento (20 amostradas no caso do presente trabalho).

Note que C é uma matriz simétrica, quadrada, de ordem N (o número de PAs ocorridos numa janela de LFP ou *trial*) com todos os elementos da diagonal principal iguais a 1 (casos em que o expoente da equação (3.10) se tornaria nulo). Além disso, é importante destacar que $c_{mn} = 1$ indica perfeito sincronismo de fase entre os segmentos m e n , ou seja, a diferença de fase instantânea entre os segmentos é constante em todo o tempo t_i . Por outro lado, $c_{mn} = 0$ indica que

não há sincronismo entre os segmentos, ou seja, a diferença entre as fases instantâneas é aleatória.

5. Cálculo dos autovalores da matriz C ($\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3 \geq \dots \geq \lambda_N$). Os autovalores são uma medida importante a respeito de uma matriz e podem sintetizar algumas das informações de sincronização presentes em C . Dois exemplos de como os autovalores retratam esta informação são:
 - No caso de total sincronismo entre os segmentos de LFP extraídos na etapa 2, C se tornaria uma matriz unitária, com um autovalor igual a N , enquanto os demais autovalores seriam nulos.
 - No caso de não haver sincronismo entre os segmentos de LFP, C se tornaria uma matriz identidade, com todos os autovalores iguais a 1.
 Estes dois exemplos mostram que quanto maior o autovalor máximo λ_1 , maior é o sincronismo entre a SUA e o LFP em uma determinada janela.
6. Geração de uma sequência aleatória de dados $g(n)$.
7. Cálculo dos postos de cada elemento da sequência $g(n)$, denotado por $R(g(n))$. Tal valor indica a ordem em que determinada amostra de $g(n)$ estaria se toda a sequência fosse descrita de forma decrescente. Por exemplo, se $g(2)$ é o terceiro maior elemento da sequência, $R(g(2))$ é igual a três.
8. Geração de dados sub-rogados (*surrogate data*), definidos como $\tilde{y} = y(R(g(n)))$, sendo y o sinal de LFP na presença de estímulo. Note que nos dados sub-rogados a função densidade de probabilidade da variável aleatória correspondente aos dados reais é mantida, alterando-se no entanto, a estrutura temporal (THEILER *et al.*, 1992).
9. Cálculo da matriz R de forma análoga ao que foi descrito para a matriz C na etapa 4, porém utilizando-se os sinais sub-rogados.
10. Cálculo dos autovalores da matriz R ($\lambda_1^s \geq \lambda_2^s \geq \lambda_3^s \geq \dots \geq \lambda_n^s$).
11. Repetição das etapas 6 a 10 por 500 vezes.
12. Cálculo da média e do desvio padrão dos autovalores máximos para as 500 matrizes R , denotados por $\overline{\lambda_1^s}$ e σ_1 .
13. Cálculo do SCMS propriamente dito em uma determinada janela:

$$\eta = \begin{cases} \frac{\lambda_1 - \overline{\lambda_1^s}}{N - \overline{\lambda_1^s}}, & \text{se } \lambda_1 > \overline{\lambda_1^s} + K * \sigma_1 \\ 0, & \text{caso contrário} \end{cases} \quad (3.11)$$

onde K é uma constante que determina o limiar de comparação de autovalores. Visando comparações com o único trabalho que calculou a SCMS no contexto de seletividade a orientação (LI; GAO; WANG, 2019), foi empregado o mesmo valor ($K = 3$), que corresponde a intervalos de confiança de 99%, considerando-se uma distribuição normal (LI *et al.*, 2007; LI; GAO; WANG, 2019).

Note que o próprio autovalor máximo de C , denotado por λ_1 e calculado na etapa 5 já poderia ser um bom índice de sincronização PAs/LFP. Entretanto, tal valor depende da ordem da matriz C , que equivale ao número de ocorrências de PAs em uma dada janela. Logo, todas as etapas posteriores a 5 foram realizadas com o intuito de obter um índice que fosse normalizado pelo número de PAs, ou seja, que não dependesse da ordem da matriz C . Esta é uma das grandes vantagens do SCMS, pois se trata de um estimador que não depende do número de ocorrências de PAs na janela, o que permite comparar melhor resultados de diferentes neurônios (LI; CUI; LI, 2016).

Uma vez calculado o SCMS para cada janela, foi obtida a média do SCMS para cada orientação e banda, sendo empregadas 9 janelas por orientação. Assim como todas as demais métricas calculadas anteriormente a partir do LFP (potência, TFE, MSC e PLV), o SCMS foi comparado a CS por meio do cálculo do coeficiente de correlação de Spearman e do SRCT.

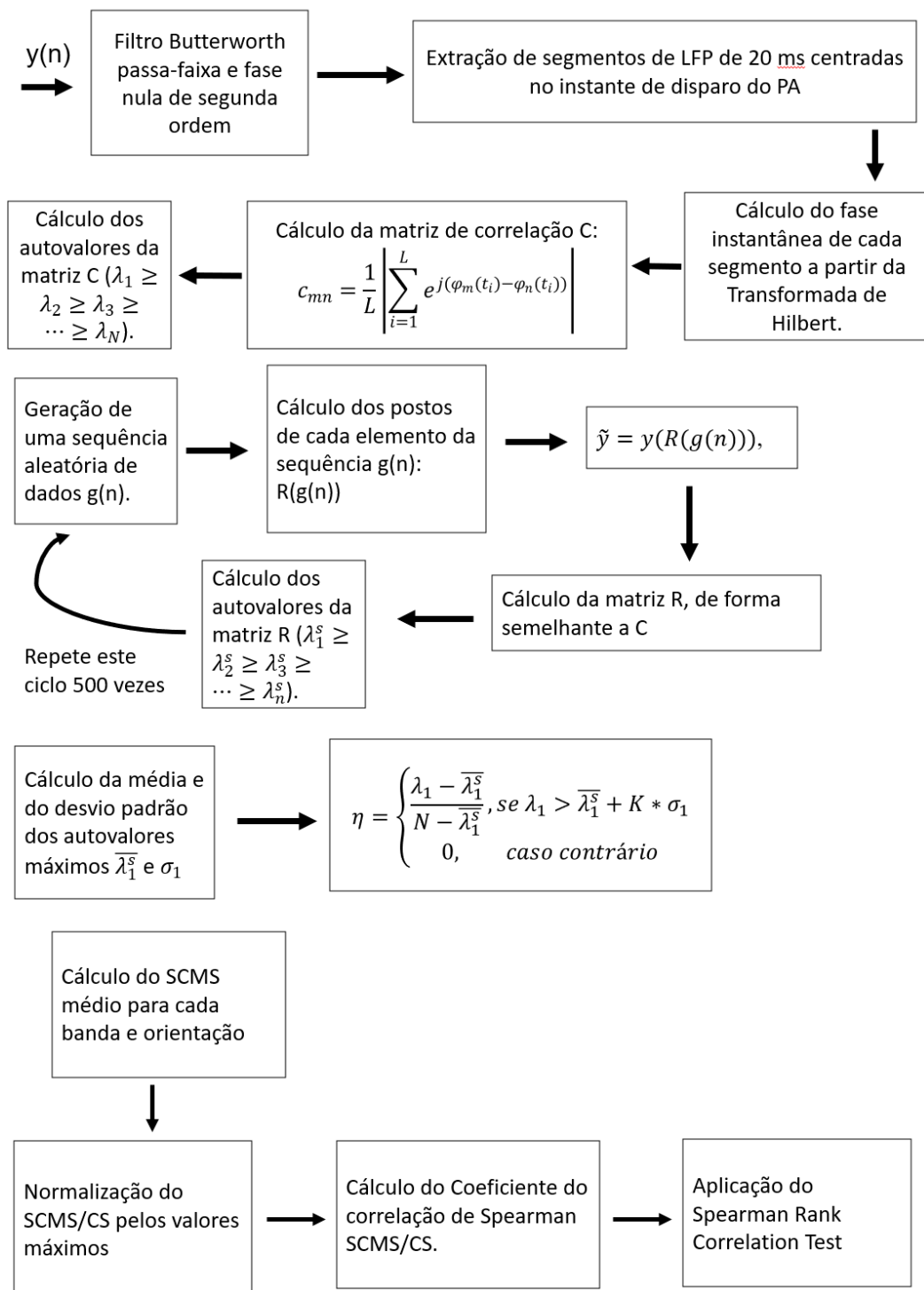


Figura 3.6 Diagrama de blocos com as etapas de processamento que visam comparar SCMS do LFP com a SUA.

3.3.6 Índices de seletividade

Até aqui, foram calculados sete métricas em banda a partir do LFP, sendo elas: potência, TFE, PLV (média, variância e *fanofactor*), SCMS e MSC. Para cada uma dessas técnicas, avaliou-se o grau de similaridade entre estas e a CS em cada banda quanto à seletividade à orientação. Nesta seção, é descrita uma abordagem levemente diferente. Foram calculados os índices de seletividade a partir das curvas de sintonia e da curva de cada uma das técnicas, obtendo-se um valor único para quantificar a similaridade entre estas. Tais parâmetros são descritos nas próximas seções.

3.3.6.1 Índice de Orientação (OI)

Segundo Mazurek; Kager e Van Hooser (2014), o índice de orientação (OI, do inglês *Orientation Index*) é um parâmetro que mede a seletividade à orientação de determinada função em coordenadas polares, numa escala de 0 a 1, sendo maior à medida que a seletividade à orientação aumenta. Assim, OI é calculado por:

$$OI = 1 - \frac{R_{orth+} + R_{orth-}}{R_{pref} + R_{anti}} \quad (3.12)$$

onde R_{pref} é a resposta na orientação preferencial, $R_{orth+} = R_{pref} + 90^\circ$, $R_{orth-} = R_{pref} - 90^\circ$ e $R_{anti} = R_{pref} - 180^\circ$.

Dessa forma, foi calculado o índice de orientação da CS e das métricas do LFP para todos os sítios e bandas. Posteriormente, foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre o OI da CS/LFP para cada banda.

3.3.6.2 Índice de Direção (DI)

Semelhante ao OI, o Índice de Direção (DI, do inglês *Direction Index*) é um parâmetro que mede a seletividade de direção de determinada função em coordenadas polares, sendo calculado por:

$$DI = 1 - \frac{R_{anti}}{R_{pref}} \quad (3.13)$$

Assim, DI apresenta valores próximos a 1 quando a seletividade de direção é bem destacada, o que implica menor simetria da curva em coordenadas polares. Similarmente ao realizado para OI, foi calculado o coeficiente de correlação de

Spearman para os DIs da CS e cada métrica do LFP (potência, TFE, PLV, SCMS e MSC).

3.3.6.3 Variância Circular de Orientação (VCO) e Variância Circular de Direção (VCD)

As variâncias circulares de orientação (VCO) e direção (VCD), assim como o OI e DI, podem indicar o quão seletiva a orientação e direção é determinada função em coordenadas polares. Segundo Mazurek; Kager; Van Hooser (2014), os índices OI e DI podem ser comprometidos por ruído ou quando uma orientação preferencial não esteja representada entre os ângulos analisados, casos em que as variâncias circulares levariam a melhores resultados.

A VCD pode ser estimada por (MAZUREK; KAGER; VAN HOOSER, 2014):

$$VCD = 1 - \frac{\sum_{i=0}^M R(\theta_i) e^{j\theta_i}}{\sum_{i=0}^M R(\theta_i)} \quad (3.14)$$

onde $R(\theta_i)$ é o valor da função para um ângulo de estimulação θ_i e M é o número de orientações de estímulo possíveis.

A partir da equação (3.14), é feita uma leve modificação, que permite desprezar os efeitos direcionais e estimar apenas a seletividade à orientação, com uma mudança no expoente do numerador. A partir desta abordagem, é definida a variância circular de orientação (MAZUREK; KAGER; VAN HOOSER, 2014):

$$VCO = 1 - \frac{\sum_{i=0}^M R(\theta_i) e^{2j\theta_i}}{\sum_{i=0}^M R(\theta_i)} \quad (3.15)$$

Assim como foi feito para os demais parâmetros unitários, foram calculadas as VCOs e VCDs para CS e métricas do LFP - para todos os sítios e bandas - sendo eles comparados a partir do coeficiente de correlação de Spearman.

4 Resultados

Este capítulo apresenta os resultados de todas as análises descritas no capítulo de metodologia.

4.1 CS vs Potência

A Figura 4.1 ilustra a potência não-normalizada do LFP na presença e ausência de estímulo em cada banda e orientação de um determinado sítio. É evidente que com ou sem estímulo, a potência está mais concentrada nas bandas delta e teta, em todas as orientações, o que é evidenciado pelos raios (escalas) de diferentes tamanhos em cada banda. Tal característica foi observada em todos os sítios. Além disso, como se pode notar, a presença de estímulo faz com que as bandas beta e/ou gama apresentem seletividade à orientação, o que não é observado na ausência de estímulo. Entretanto, mesmo com o aumento de potência na banda gama nas orientações preferenciais, a potência encontrada ainda é bem menor do que a observada em bandas de baixa frequência.

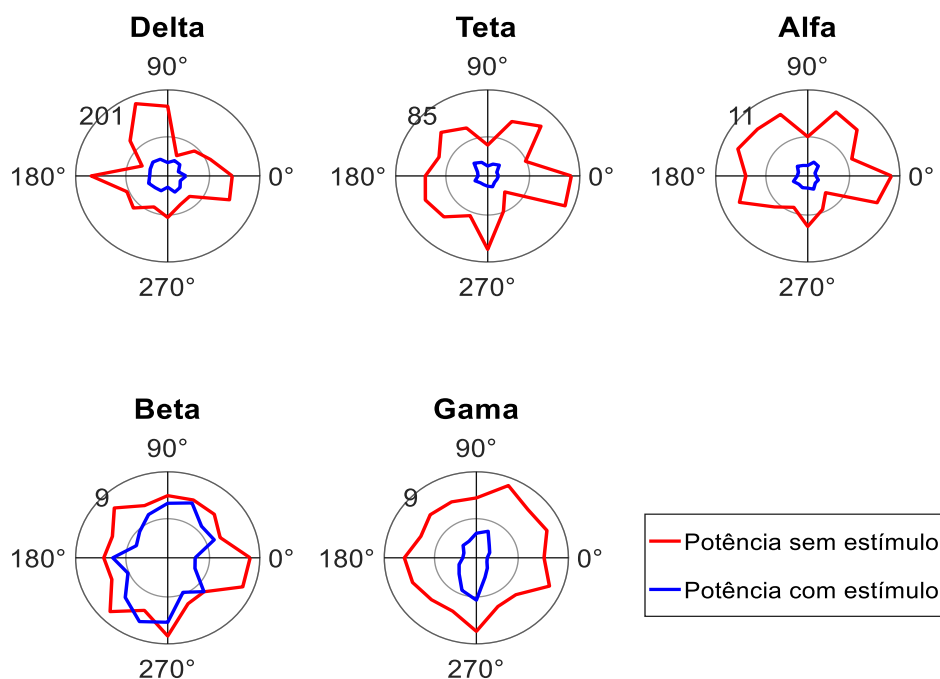


Figura 4.1 Potência (em mV^2) do LFP na presença e ausência de estímulo do sítio cool012a02_2B. Notar que os raios são diferentes para cada banda.

Visando a realizar uma comparação sem influência do fator de escala, as curvas de cada sítio foram normalizadas, obtendo-se a potência normalizada (Potn) e a CS normalizada (CSn). Dentre todos os sítios analisados, pôde-se separá-los em dois grupos principais:

- Grupo P1: aqueles em que a CSn não segue a Potn em nenhuma banda (Figura 4.2), composto por 34 sítios;
- Grupo P2: aqueles em que a CSn segue a Potn nas bandas beta e/ou gama, composto por 72 sítios (Figuras 4.3/4.4);

A Figura 4.3 ainda sugere que a SUA é mais sintonizada que o LFP, já que a seletividade à orientação é mais característica na CS do que na potência do LFP. Isto pode ser visto pelo formato mais estreito das curvas.

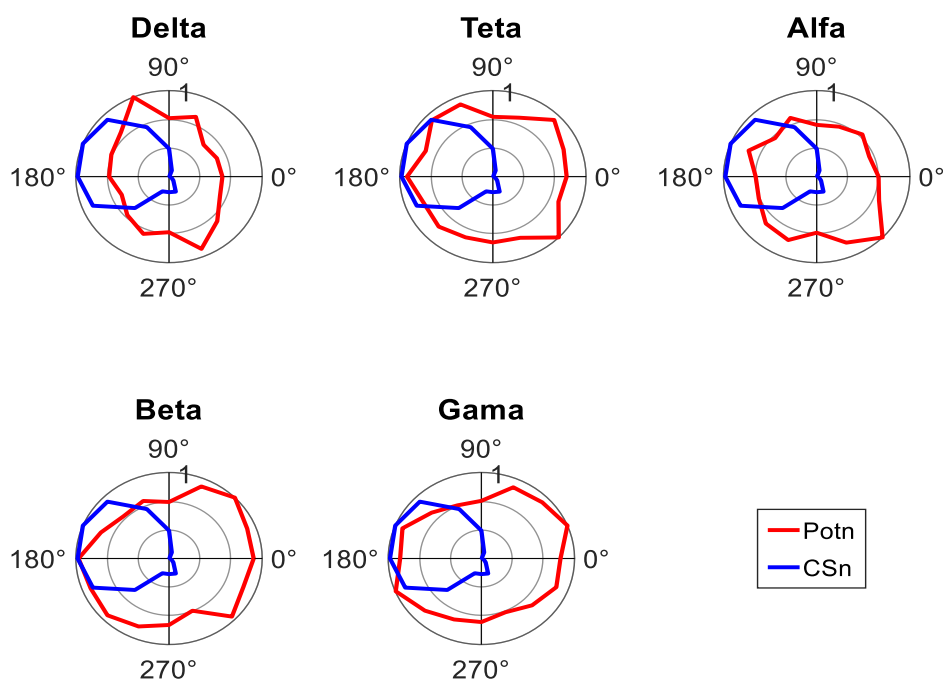


Figura 4.2 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool019a01_2B do grupo P1.

Como a banda gama apresentou uma maior similaridade com a CSn e está contida em um amplo espectro de frequências (30,5-100 Hz), ela foi dividida em gama baixa (30,5-60 Hz) e gama alta (60,5-100 Hz), conforme mostrado na Figura 4.5. Particularmente a banda gama alta apresentou uma similaridade ainda maior entre Potn e CSn. Note que as Figuras 4.2-4.5 apresentam resultados representativos do grupo, cujas observações podem ser extrapoladas para os demais sítios do mesmo grupo.

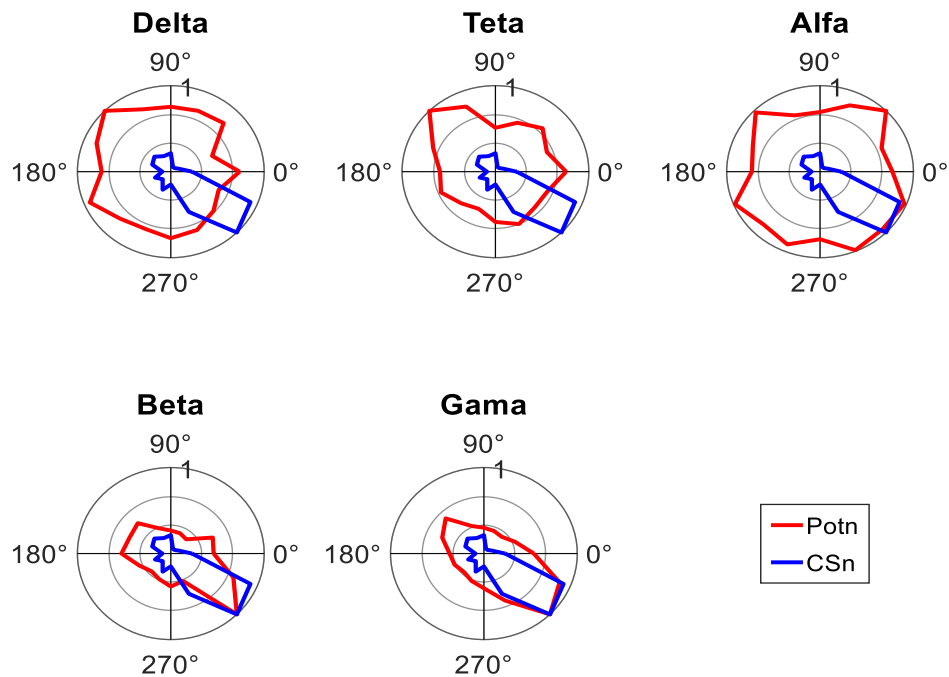


Figura 4.3 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool012a02_1B do grupo P2, com similaridade CSn/Potn nas bandas beta e gama.

A Figura 4.6 mostra os diagramas de caixa para o coeficiente de correlação de Spearman entre a CSn e a Potn nas diferentes bandas. Pode-se notar que, na banda delta, a distribuição é assimétrica, tendo uma mediana negativa e valores mais concentrados em coeficientes de correlação negativos. Já para teta e alfa, as distribuições são mais simétricas e apresentam correlação mediana próxima de zero. Por outro lado, as medianas das distribuições para as bandas beta e gama são positivas e com diversos coeficientes de correlação maiores que 0,5 indicando maior similaridade entre a potência do LFP e a CS, nestas frequências. Particularmente, a banda gama alta foi a que apresentou sítios mais correlacionados.

O percentual de sítios para os quais o *Spearman Rank Correlation Test* (SCRT) indicou rejeição da H_0 , ou seja, ausência de correlação entre as curvas para cada banda é mostrado na Figura 4.7, a partir da qual fica evidente que as bandas beta e gama possuem maior similaridade entre a potência do LFP e a CS. Além disso o SCRT mostra que a banda delta possui alguns sítios com coeficientes de correlação

significativos, indicando no caso um coeficiente de correlação negativo entre potência/CS.

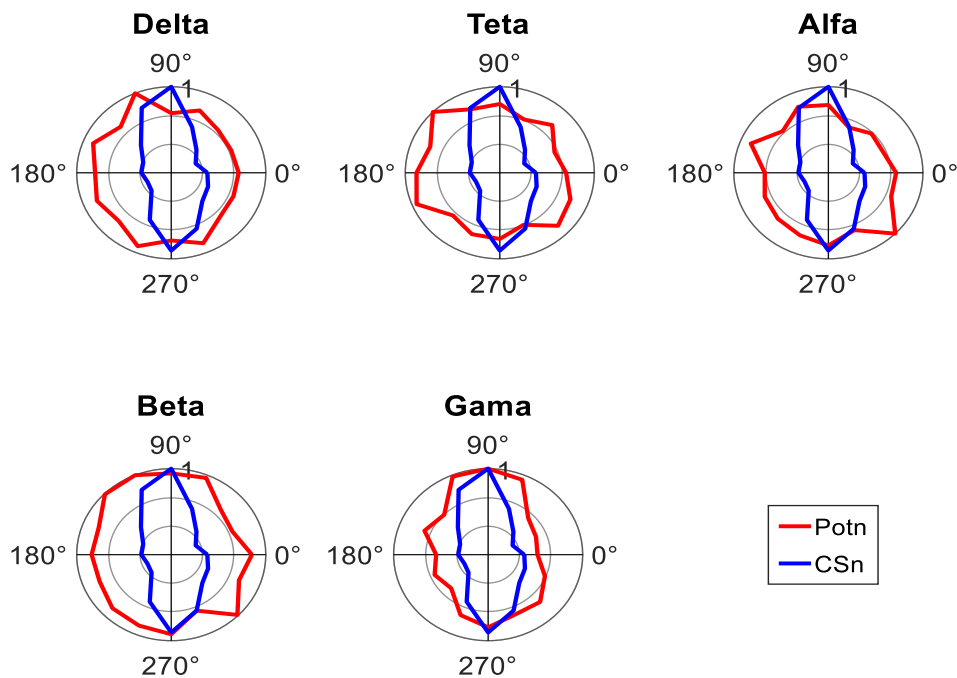


Figura 4.4 Potência normalizada na presença de estímulo (Potn), em vermelho, e curva de sintonia normalizada (CSn), em azul, do sítio cool019a01_1B do grupo P2 com similaridade entre CSn e Potn apenas na banda gama.

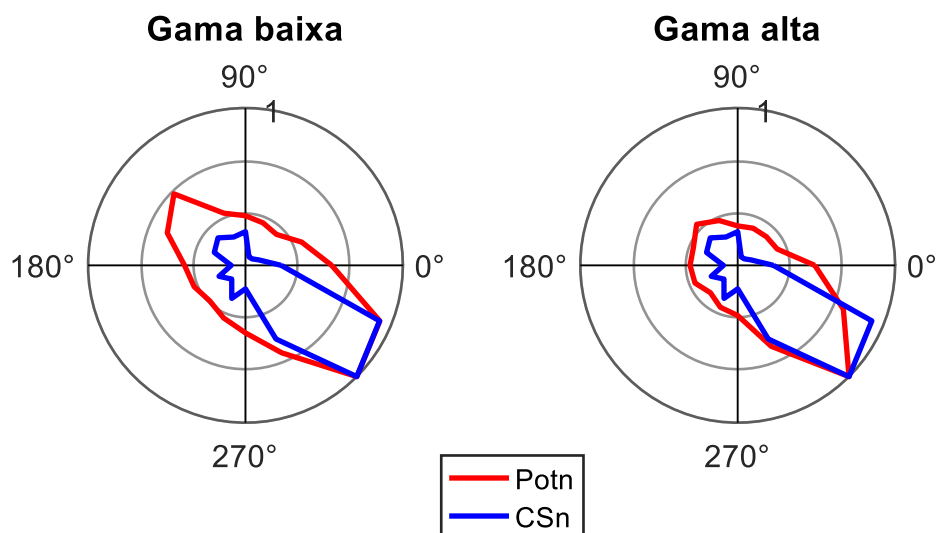


Figura 4.5 Potn e CSn nas bandas gama alta e baixa do sítio cool012a02_1B pertencente ao grupo P2.

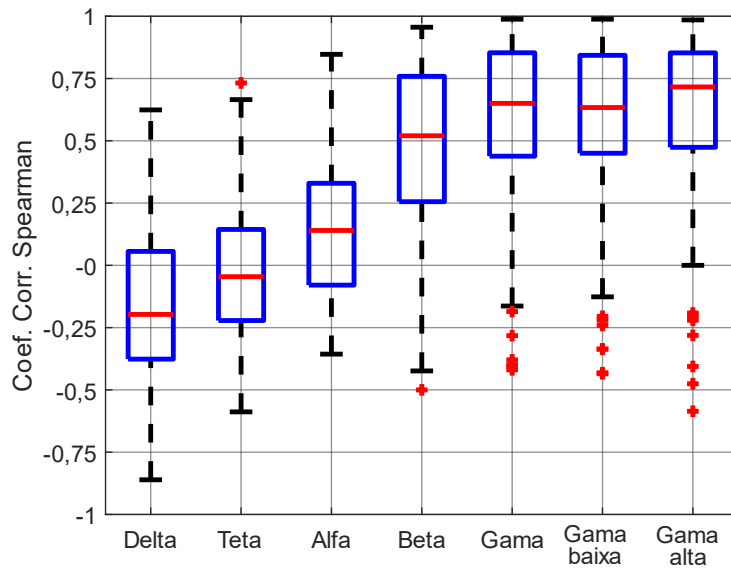


Figura 4.6 Diagramas de caixa dos coeficientes de correlação de Spearman entre Potn e CSn.

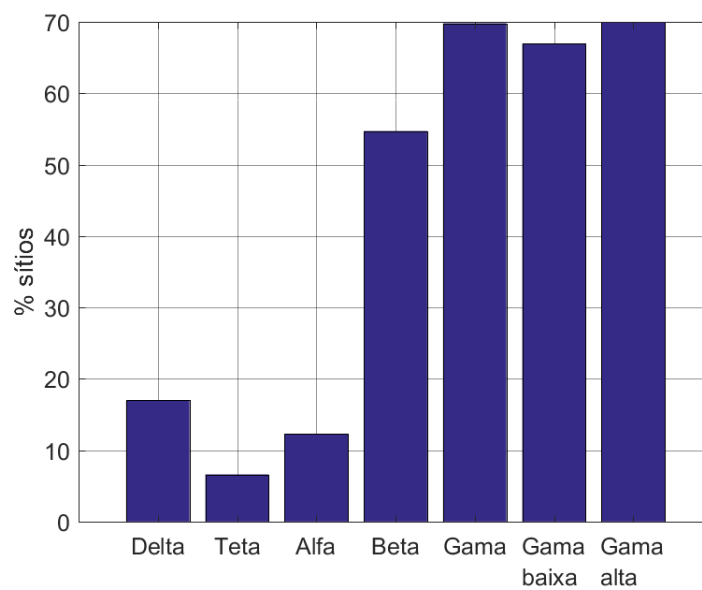


Figura 4.7 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a potência e a CS do LFP.

4.2 CS vs TFE

Assim como foi encontrado na potência, pôde-se separar os sítios em dois grandes grupos principais:

- Grupo T1: aqueles em que a CSn não segue o TFE n em nenhuma banda (Figura 4.8), composto por 44 sítios;
- Grupo T2: aqueles em que a CSn segue o TFE n nas bandas beta e/ou gama (Figuras 4.9/4.10), composto por 62 sítios;

De forma análoga ao observado para potência, a Figura 4.9 também confirma que a SUA é mais sintonizada que o LFP, já que a seletividade à orientação é mais característica na CSn do que no TFE normalizado (TFEn). É importante destacar que, assim como realizado para potência, as Figuras 4.8-4.10 mostram os resultados de sítios representativos de cada grupo, sendo as observações extrapoladas para os demais sítios do mesmo grupo.

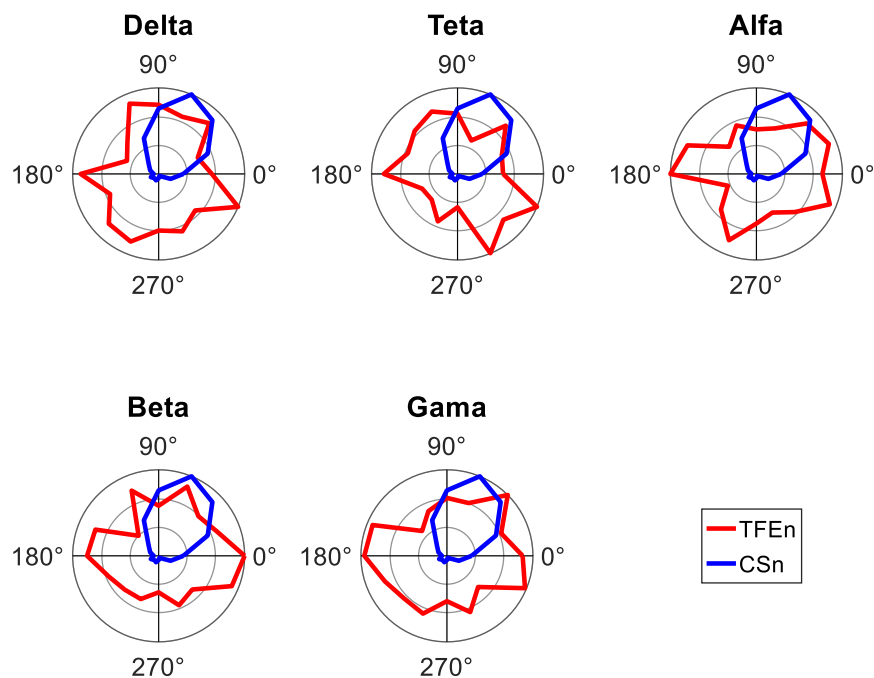


Figura 4.8 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn, em azul, do sítio ori015a01_2C pertencente ao grupo T1.

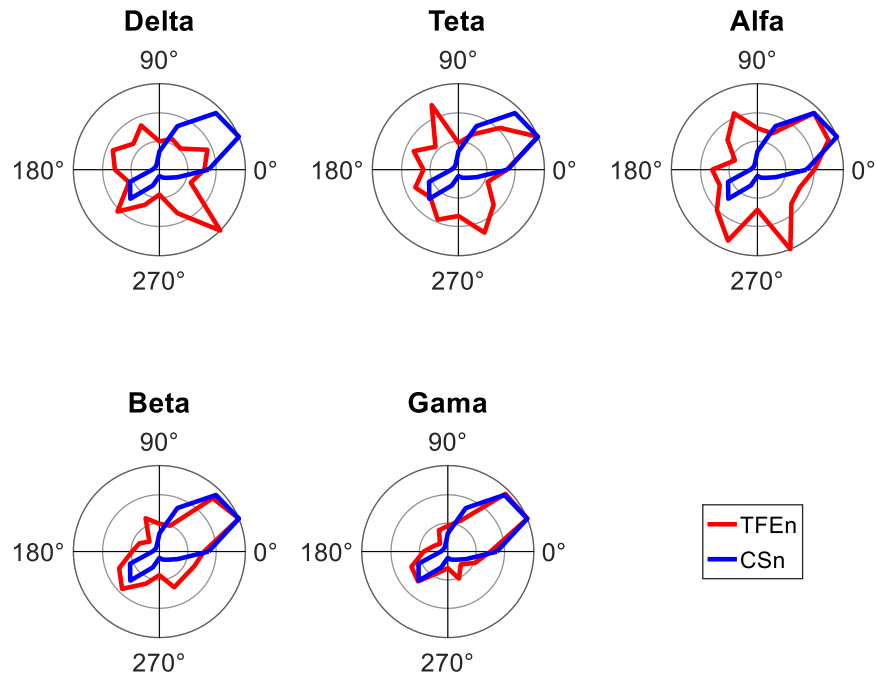


Figura 4.9 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori026a01_3A do grupo T2, da qual a CSn segue o TFEn nas bandas beta e gama.

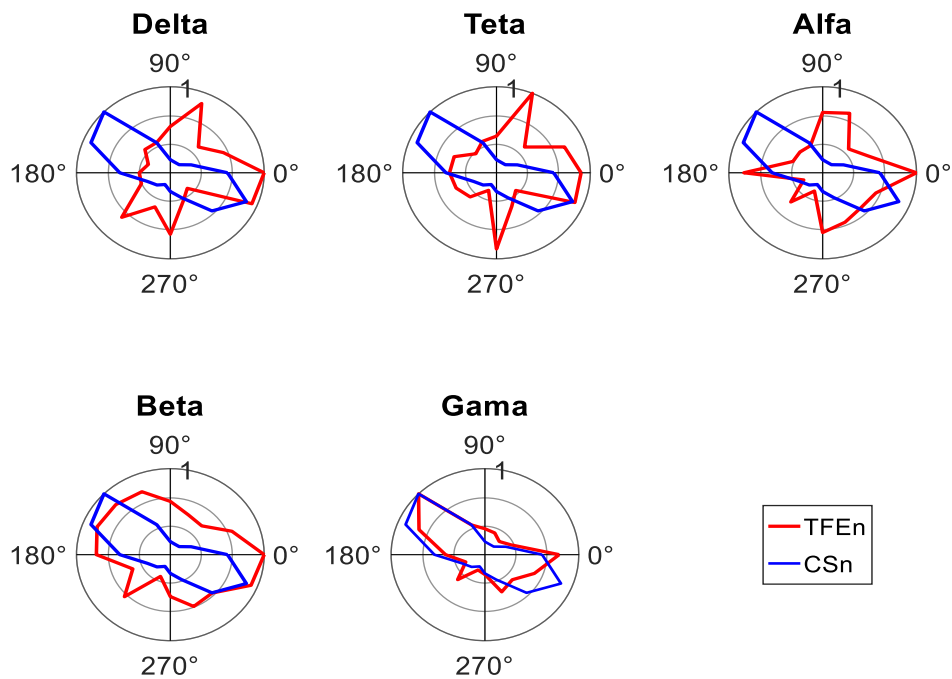


Figura 4.10 TFE normalizado (TFEn), em vermelho, e CSn, em azul, do sítio ori004a01_2B pertencente ao grupo T2 com TFEn similar a CSn apenas na banda gama.

A Figura 4.11 mostra os diagramas de caixa para o coeficiente de correlação de Spearman entre a CSn e o TFE nas diferentes bandas. Observações similares às previamente feitas para o caso de correlação entre potência e CS podem ser feitas também para este caso, ou seja: mediana e correlações negativas para a banda delta; mediana e distribuição com valores em torno de zero para teta e alfa; e medianas e correlações positivas para as bandas beta e gama (inclusive baixa e alta). O percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da hipótese nula de ausência de correlação entre as curvas para cada banda é mostrado na Figura 4.12. Neste caso, nota-se que o maior número de curvas correlacionadas ocorre nas bandas beta e gama, de forma semelhante ao que foi observado para a potência.

Comparando-se o TFE com seus valores críticos, dois aspectos foram observados quanto à variação de potência devido ao estímulo:

- i) os sítios do grupo T1 apresentaram variação de potência estatisticamente significativa devido ao estímulo na banda gama, mas sem apresentar seletividade à orientação (Figura 4.13) – a curva de TFE supera o valor crítico superior para a maior parte das orientações;
- ii) os sítios do grupo T2 apresentaram variação de potência estatisticamente significativa devido ao estímulo na banda gama, sendo ela mais característica nas orientações preferenciais (Figura 4.14).
- iii) O sítio da Figura 4.14 mostra que nas bandas de baixa frequência ocorreu variação de potência em boa parte das orientações, sendo ela mais característica na banda delta. Além disso, na banda delta foi detectada a variação de potência em um número maior de orientações que as bandas teta e alfa. Tal comportamento foi observado em cerca de 90 sítios. Já as bandas beta e/ou gama, quando apresentaram seletividade à orientação, detectaram variação de potência principalmente na orientação preferencial. Por outro lado, nos sítios onde não foi observada seletividade à orientação no TFE, exemplo da Figura 4.13, mesmo apresentando um formato irregular na banda gama, o TFE detectou aumento de potência (sincronização) em quase todas as orientações. Desta forma o aumento de potência devido ao estímulo foi detectado em quase todas as bandas na maioria dos sítios, porém, as bandas que melhor preservaram as características da CS foram beta e/ou gama.

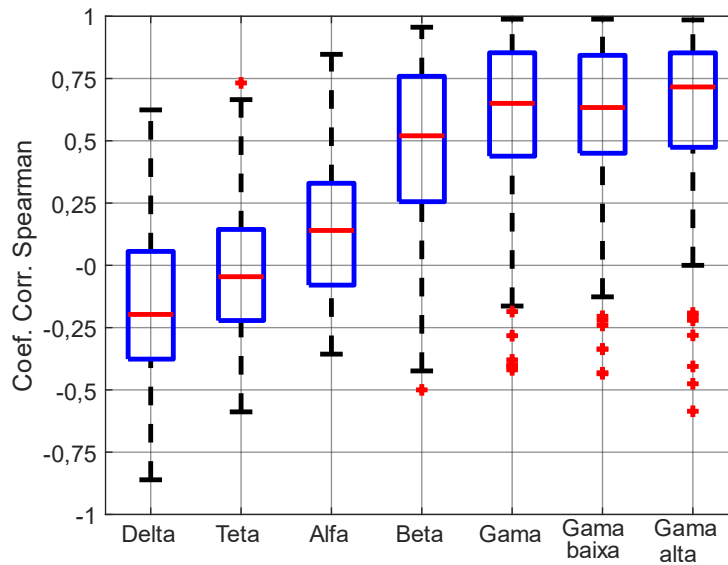


Figura 4.11 Diagramas de caixa dos coeficientes de correlação de Spearman entre TFEn e CSn em cada banda.

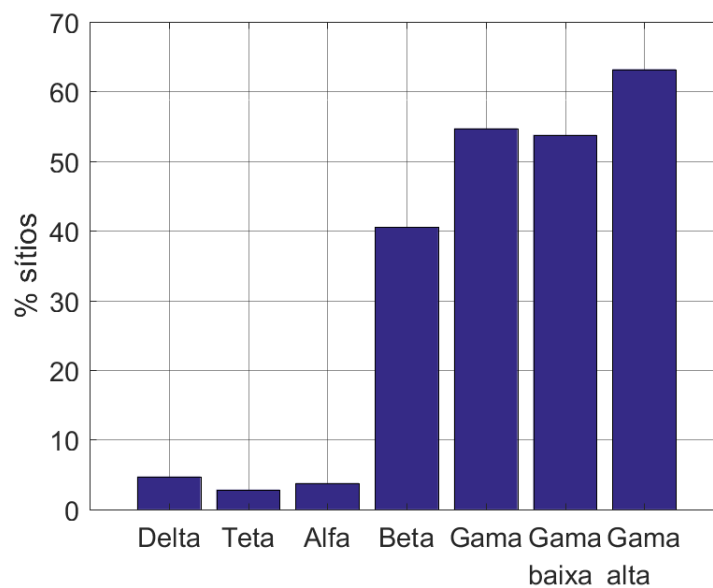


Figura 4.12 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a TFEn e a CSn.

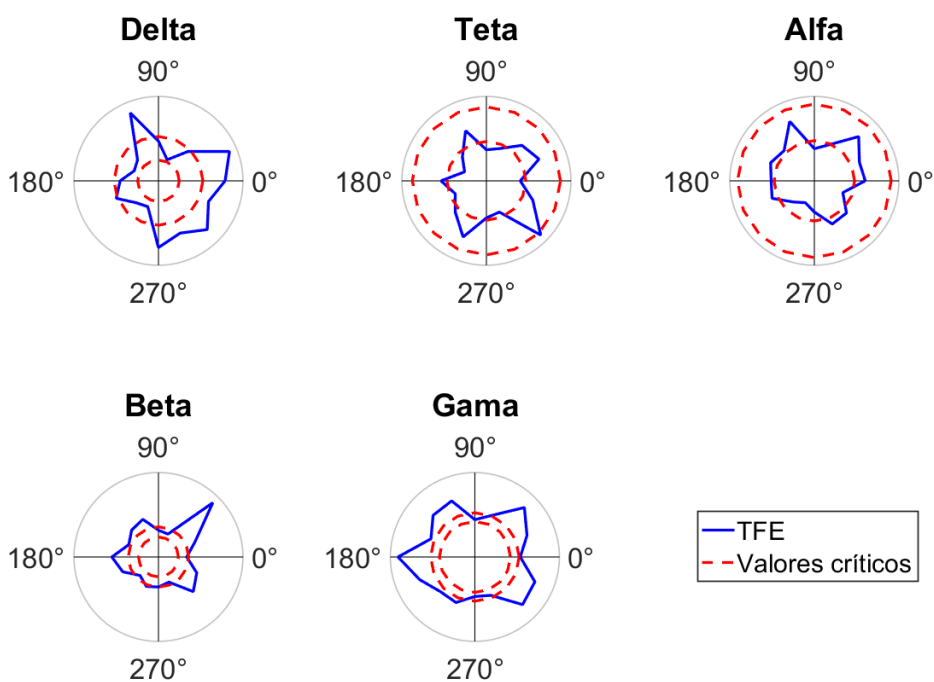


Figura 4.13 TFE (em azul) e valores críticos (em vermelho) do sítio ori003a01_3B pertencente ao grupo T1. Note que para comparação com os valores críticos foi utilizado o TFE sem normalização.

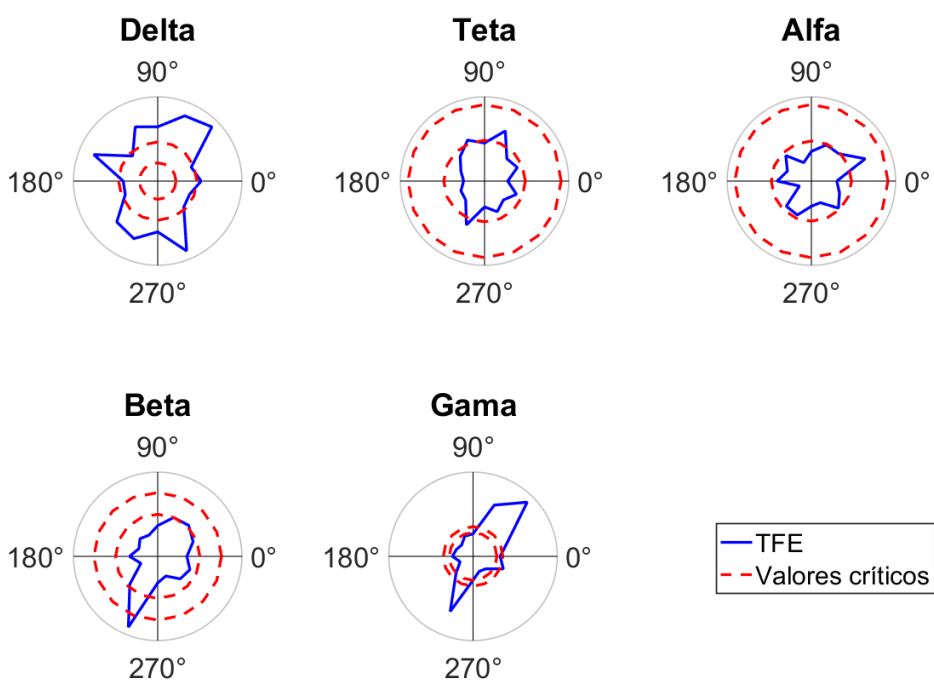


Figura 4.14 TFE (em azul) e valores críticos (em vermelho) do sítio cool020a01_1B pertencente ao grupo T2.

4.3 CS vs MSC

A MSC não seguiu a CS nem apresentou seletividade à orientação para qualquer sítio e qualquer das bandas analisadas. A Figura 4.15 mostra um exemplo típico do comportamento da MSC para os sítios estudados, indicando que esta não exibe nenhum comportamento padrão ou regular, apresentando curvas distintas em cada sítio e cada banda. Ainda assim, foi realizada a análise de correlação.

Desta forma, a Figura 4.16 ilustra os diagramas de caixa dos coeficientes de correlação de Spearman entre a MSC e a CS para cada banda. É evidente que todas as bandas apresentam distribuições com medianas próximas a zero e intervalo interquartil entre cerca de -0,25 e 0,25, indicando que para a maior parte dos sítios não há correlação entre CS e MSC. Este resultado é confirmado pela Figura 4.17 que mostra o percentual de sítios para os quais se rejeitou a hipótese nula de ausência de correlação no SRCT, indicando que não há correlação para a maioria dos sítios e bandas.

4.4 CS vs PLV

Dentre todos os sítios analisados, uma tendência geral foi encontrada para todas as métricas calculadas a partir do PLV: tanto a média (Figura 4.18), quanto a variância (Figura 4.19) e o *fanofactor* (Figura 4.20) desta técnica não conseguiram reproduzir a CS em nenhuma banda. Além disso, o formato das curvas indica que o PLV não reproduz a seletividade à orientação e nem apresenta padrões de comportamento consistentes entre os sítios.

As Figuras 4.21-4.23 ilustram os diagramas de caixa da distribuição dos coeficientes de correlação de Spearman entre a CS e a média, a variância e o *fanofactor* respectivamente. A média apresentou coeficientes de correlação com a CS bem baixos, com mediana próxima de zero e 1º e 3º quartis entre -0,3 e 0,3 para todas as bandas. O mesmo foi observado também para a variância e o *fanofactor*.

As Figuras 4.24-4.26 mostram o percentual de sítios para os quais foi rejeitada a hipótese nula de ausência de correlação entre a CS e a média, a variância e o *fanofactor* do PLV, respectivamente, reforçando que todas as grandezas calculadas a partir do PLV apresentaram poucos sítios correlacionados em cada banda.

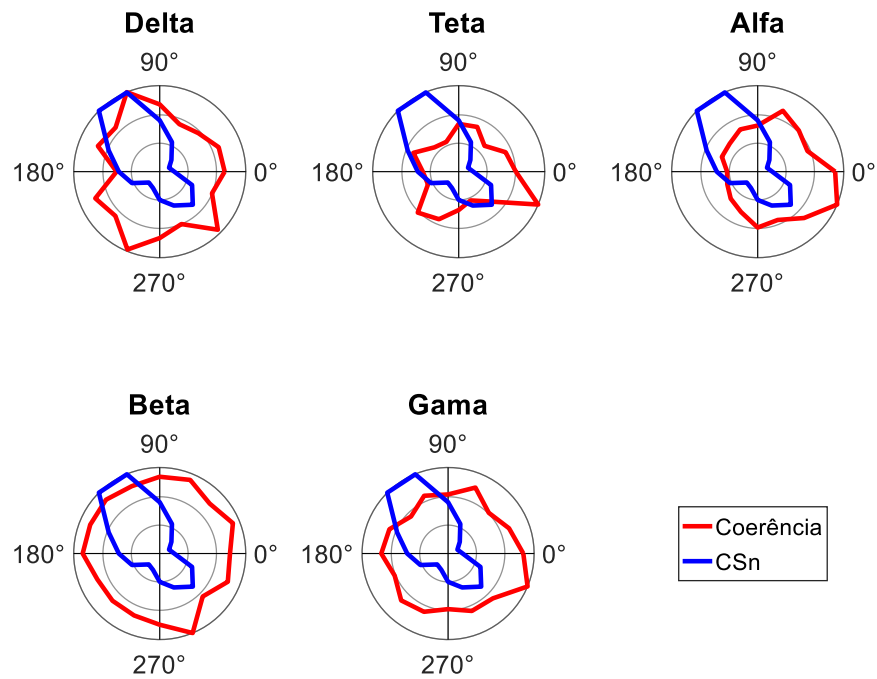


Figura 4.15 MSC normalizado (MSCn), em vermelho, e CSn (azul) do sítio ori060a01_2B.

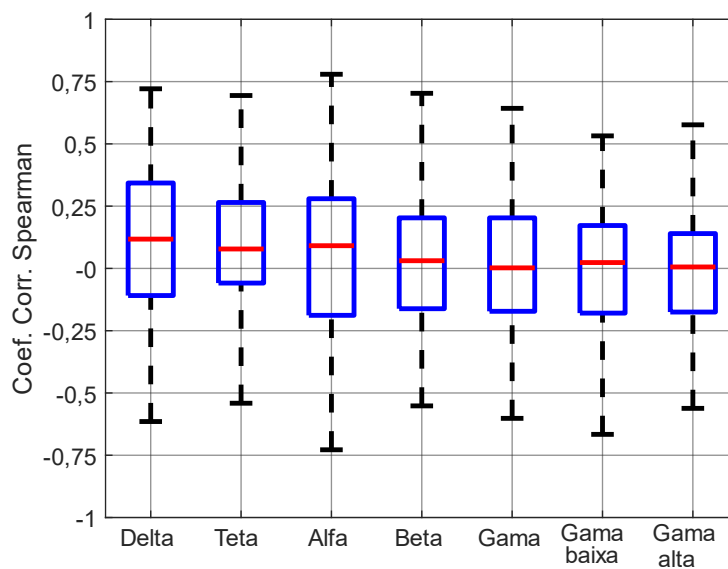


Figura 4.16 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a MSCn e a CSn.

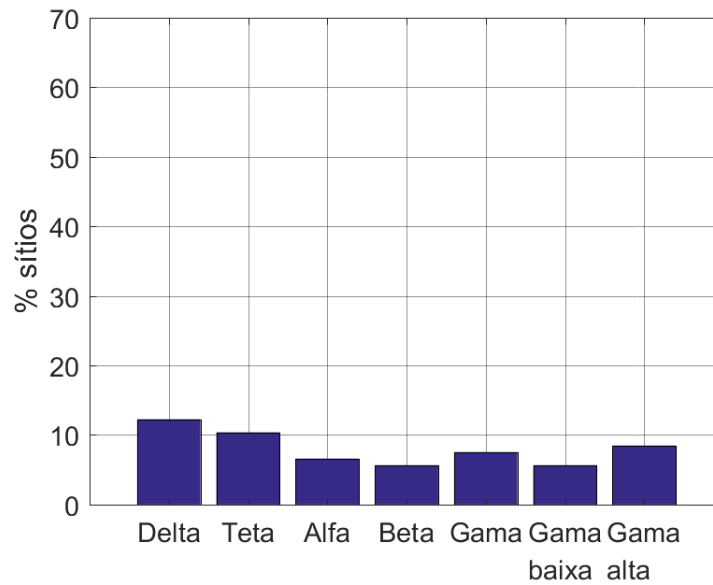


Figura 4.17 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a MSC e a CS.

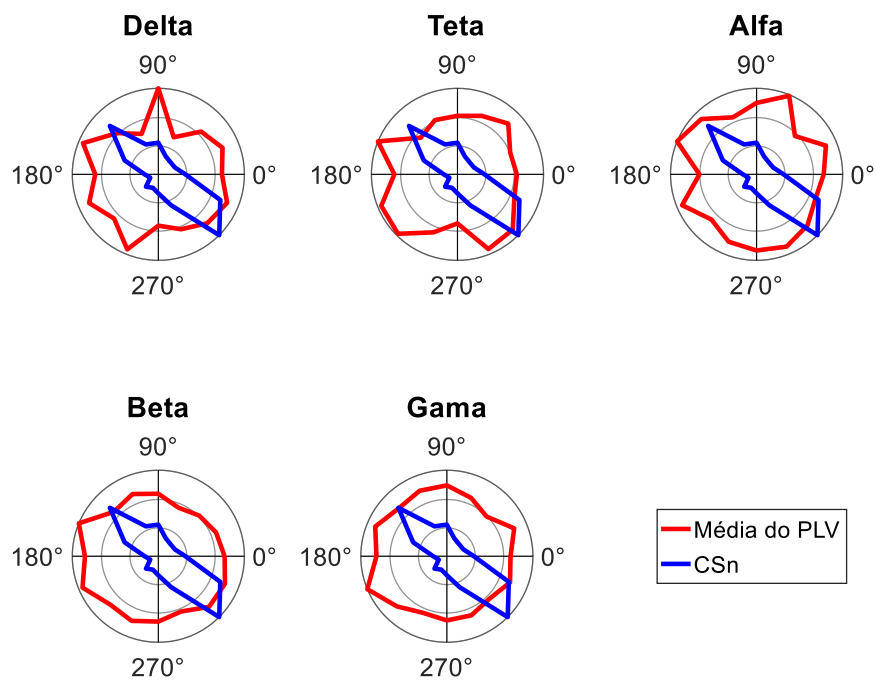


Figura 4.18 Média normalizada das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul) do sítio ori053a01_2A.

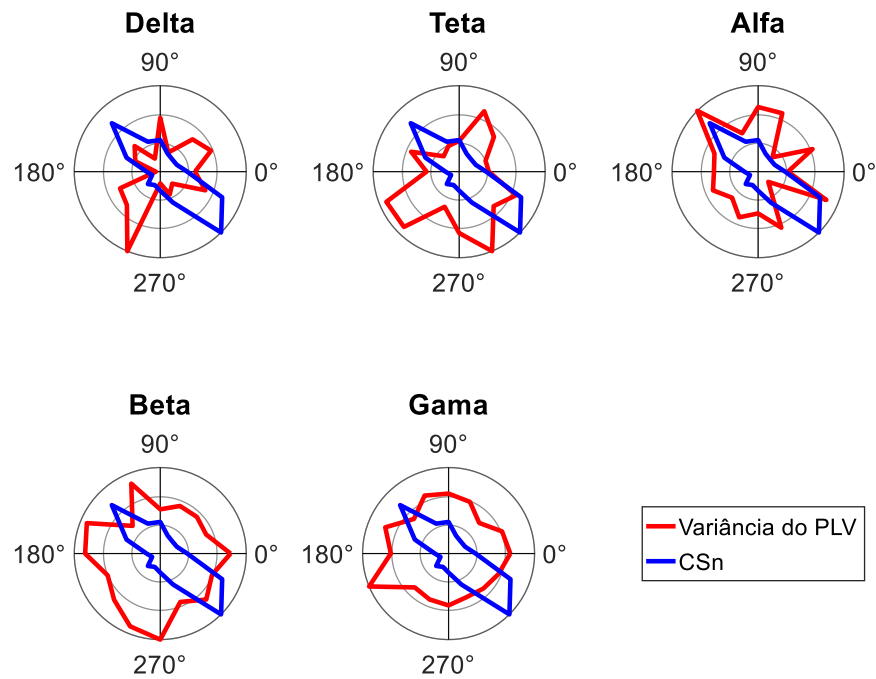


Figura 4.19 Variância normalizada das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori053a01_2A.

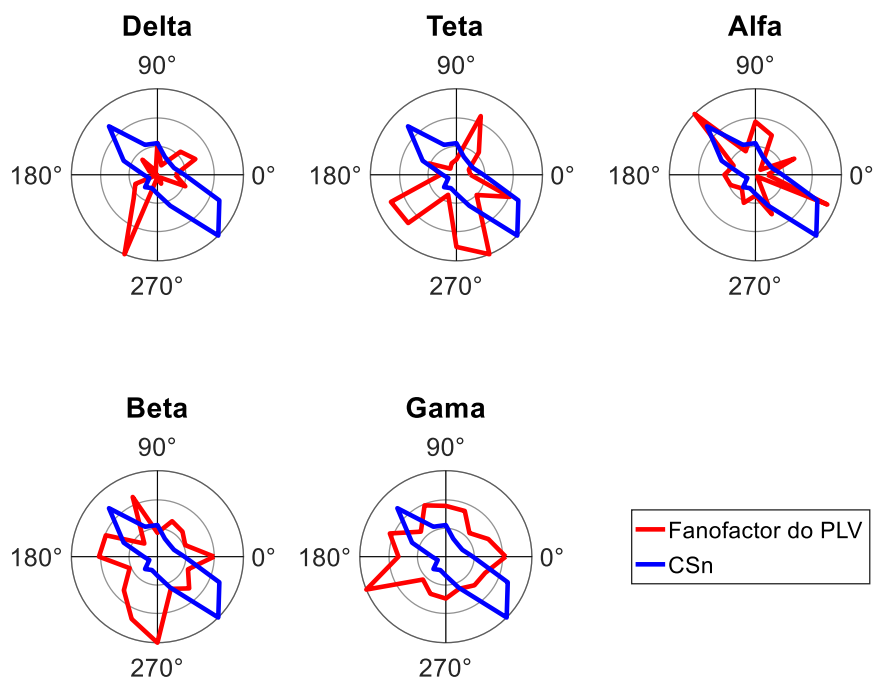


Figura 4.20 *Fanofactor* normalizado das amostras do PLV em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori053a01_2A.

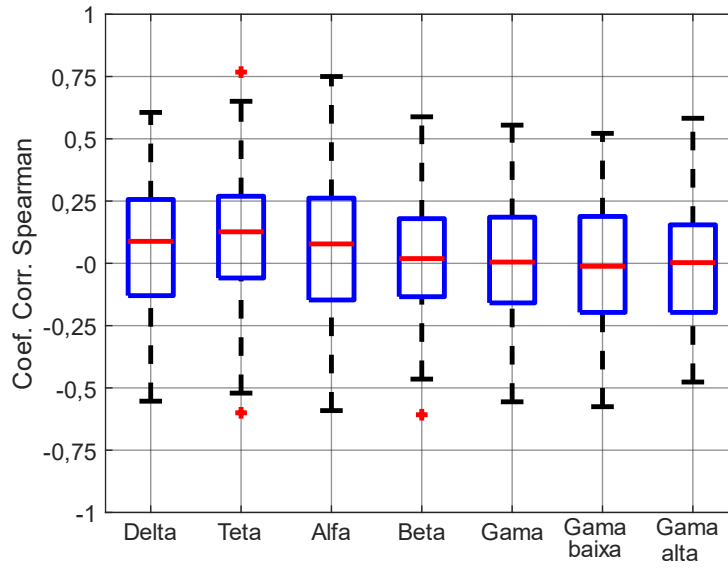


Figura 4.21 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a média do PLV e a CS.

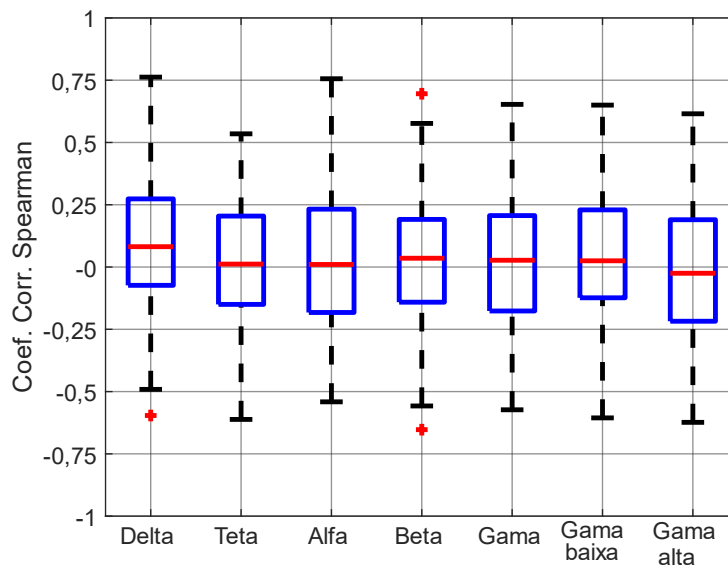


Figura 4.22 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre a variância do PLV e a CS.

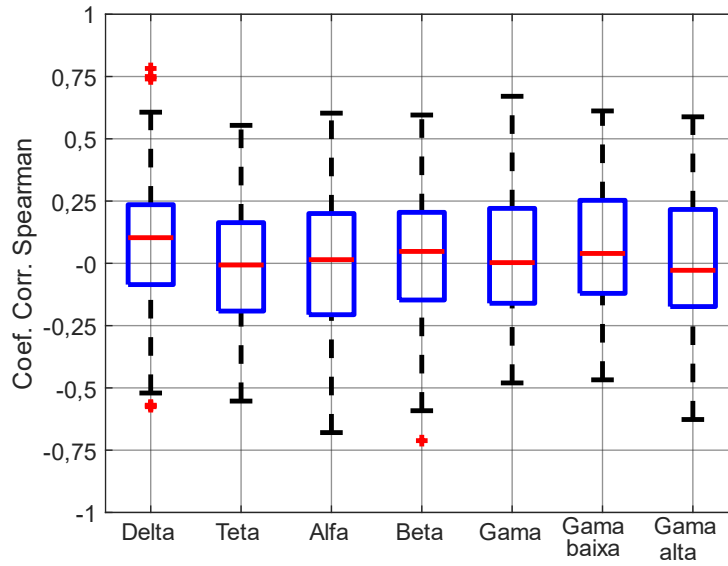


Figura 4.23 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre o *fanofactor* do PLV e a CS.

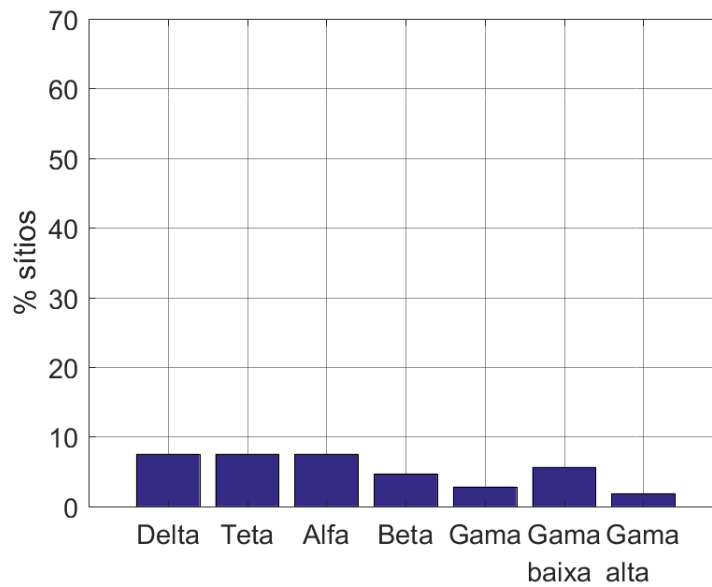


Figura 4.24 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a média do PLV e a CS.

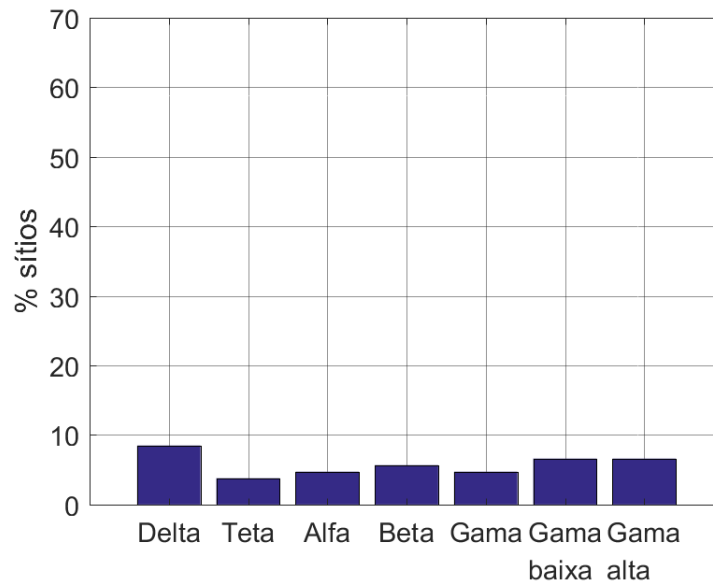


Figura 4.25 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre a variância do PLV e a CS.

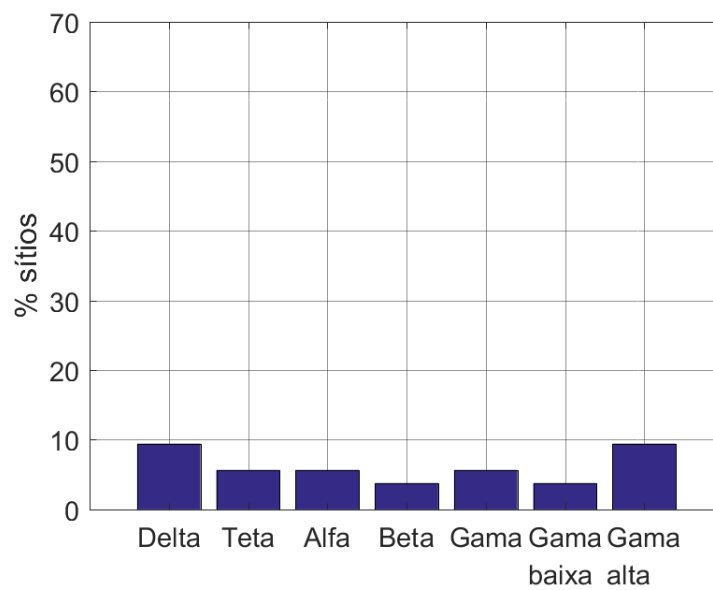


Figura 4.26 Percentual de sítios para os quais o SRCT indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre o *fanofactor* do PLV e a CS.

4.6 CS vs SCMS

Assim como observado para a Potência e o TFE, dois padrões foram observados:
 i) 62 sítios em que o SCMS não segue a CS para nenhuma banda (Figura 4.27);
 ii) 44 sítios em que o SCMS segue a CS em todas as bandas (Figura 4.28).

A Figura 4.29 mostra a distribuição dos coeficientes de correlação de Spearman do SCMS com a CS. Todas as bandas apresentam 3º quartil elevado, o que evidencia a presença de sítios com altos coeficientes de correlação nessas bandas. Entretanto, a banda delta, por apresentar uma distribuição com mediana inferior (cerca de 0,25), apresenta sítios menos correlacionados que as demais bandas. Cabe salientar que todas as outras bandas possuem resultados bem semelhantes, o que é reforçado pelo percentual de sítios que levam a rejeição da hipótese nula de ausência de correlação no SRCT, conforme mostrado na Figura 4.30. As bandas beta e gama apresentaram um percentual de sítios correlacionados levemente superior, enquanto a banda delta possui um percentual inferior.

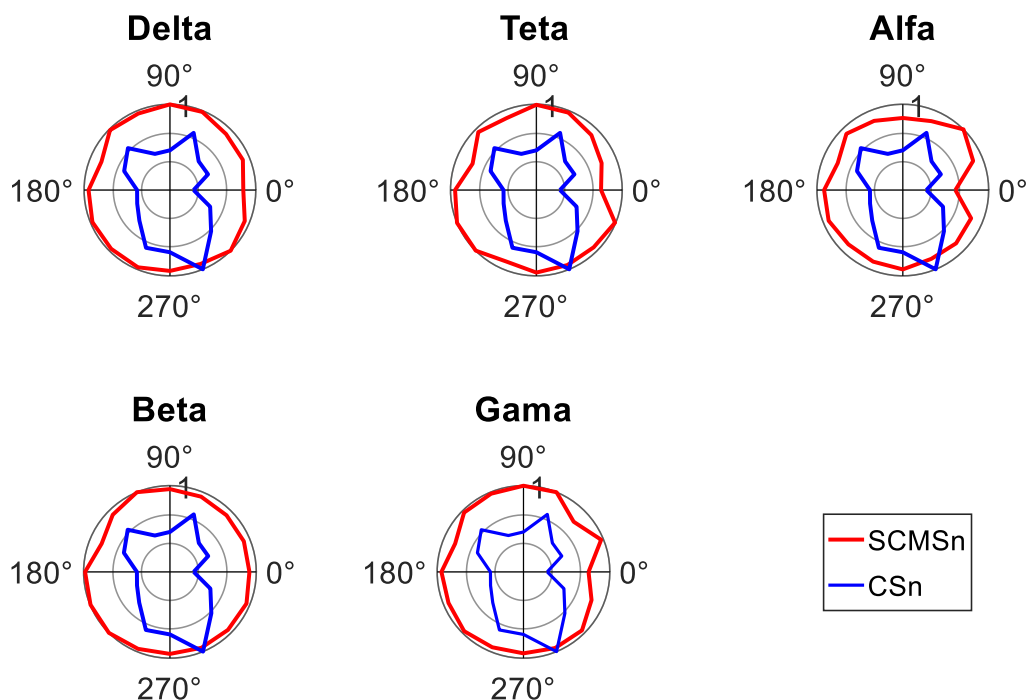


Figura 4.27 SCMS normalizado (SCMSn) em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio cool019a02_1B.

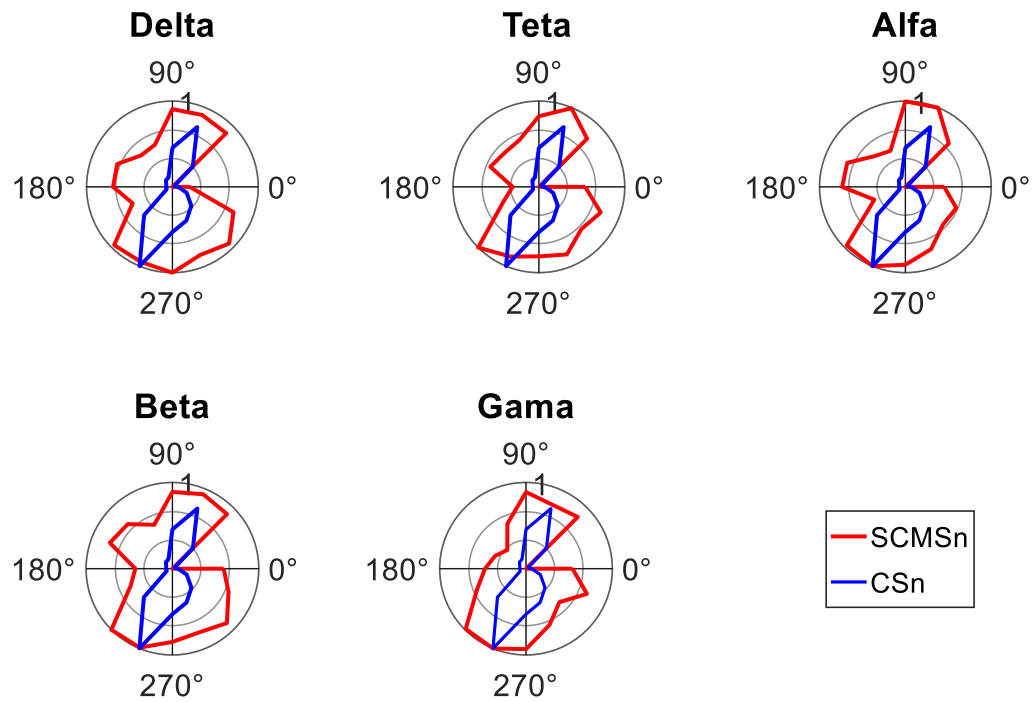


Figura 4.28 SCMS normalizado (SCMSn) em cada banda, em vermelho, e CSn (azul), do sítio ori006a01_1B.

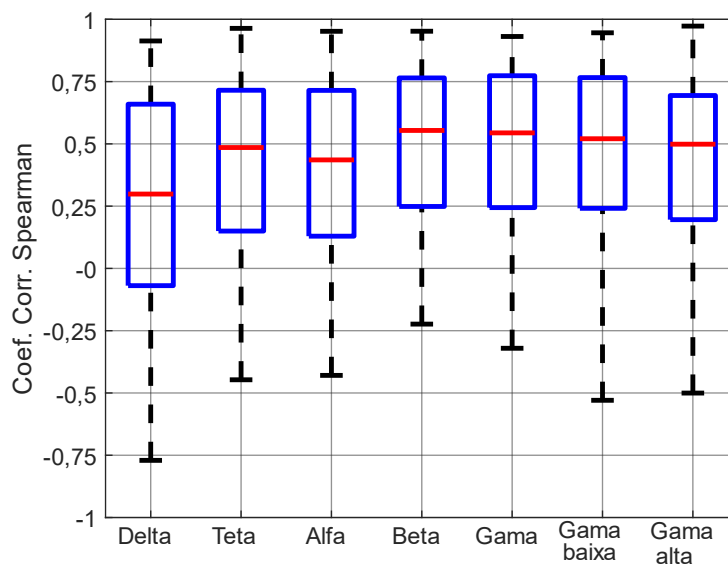


Figura 4.29 Diagramas de caixa do coeficiente de correlação de Spearman entre o SCMS e a CS.

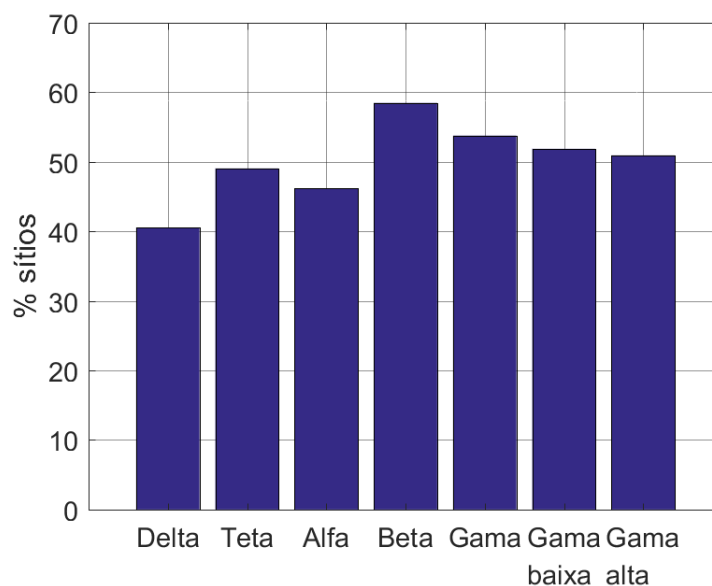


Figura 4.30 Percentual de sítios para os quais o *Spearman Rank Correlation Test* indicou rejeição da Hipótese nula de ausência de correlação entre o SCMS e a CS.

4.7 Parâmetros estatísticos unitários

4.7.1 Índices de orientação (OI)

A Figura 4.31 mostra o gráfico de dispersão do OI na banda gama, a título de ilustração, para as diferentes métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, Fanofactor do PLV, TFE, SCMS e MSC) e da CS. Analisando visualmente, é evidente que, para nenhuma métrica, tais índices foram similares aos índices da CS. Além disso, algumas métricas, como o MSC e PLV, possuem OIs muito baixos, o que indica a baixa seletividade à orientação. É interessante notar que, de uma forma geral, os OIs na CS são maiores do que para as métricas do LFP na banda gama em todos os sítios, reforçando a hipótese de que a CS é mais seletiva à orientação do que o LFP.

A Tabela 4.1 mostra o coeficiente de correlação de Spearman entre os OIs do LFP/CS para cada banda. Note que a potência é a métrica que apresenta o maior coeficiente de correlação (cerca de 0,5) para as bandas beta e gama. O TFE também apresentou coeficientes de correlação altos, porém apenas na banda gama e suas divisões. Por outro lado, as demais técnicas apresentaram baixos coeficientes em todas as bandas.

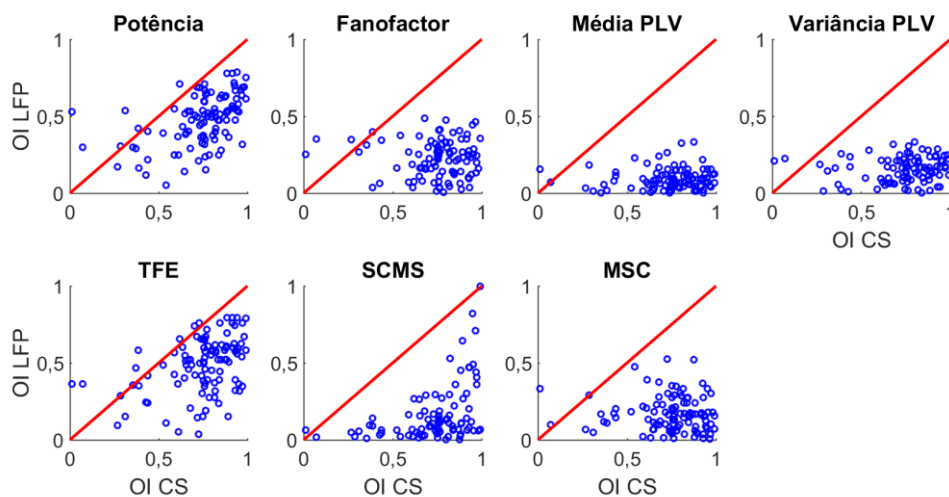


Figura 4.31 Gráficos de dispersão do índice de orientação na banda gama das métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, Fanofactor do PLV, TFE, SCMS e MSC) e da CS. A reta em vermelho foi traçada somente como uma referência para avaliar a dispersão em torno da reta $y = x$, onde x representa o eixo das abcissas e y o eixo das ordenadas.

Tabela 4.1 Coeficiente de correlação de Spearman dos OIs para as métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, Fanofactor do PLV, TFE, SCMS e MSC) e para CS em cada banda.

	Delta	Teta	Alfa	Beta	Gama	Gama baixa	Gama alta
Potência	0,13	0,00	0,07	0,37	0,48	0,48	0,51
TFE	0,10	-0,06	0,11	0,27	0,41	0,37	0,43
Média PLV	0,11	0,19	-0,06	0,03	0,07	0,16	0,07
Variância PLV	0,12	-0,03	0,00	-0,05	0,10	-0,01	0,11
Fanofactor PLV	0,16	0,06	-0,07	-0,08	0,05	0,01	0,19
SCMS	0,28	0,21	0,23	0,31	0,29	0,22	0,14
MSC	0,02	0,09	-0,06	0,08	-0,04	0,10	-0,03

4.7.2 Índice de direção (DI)

A Figura 4.32 mostra o gráfico de dispersão do DI para as métricas do LFP na banda gama e para CS. Observações similares ao OI podem ser feitas também para o DI, sendo elas: i) não foram observadas similaridades entre os índices calculados para as métricas do LFP e para CS na banda gama; ii) CS apresentou índices de direção mais elevados que as métricas do LFP, indicando uma maior seletividade à direção na SUA. Tais resultados são confirmados pela Tabela 4.2 que mostra baixos coeficientes de correlação de Spearman para DI das métricas do LFP e da CS em cada banda. As únicas métricas que apresentaram coeficientes maiores na banda gama foram a potência e o SCMS. Além disso, o SCMS apresentou coeficientes maiores que todas as outras métricas em cada banda, exceto em gama alta.

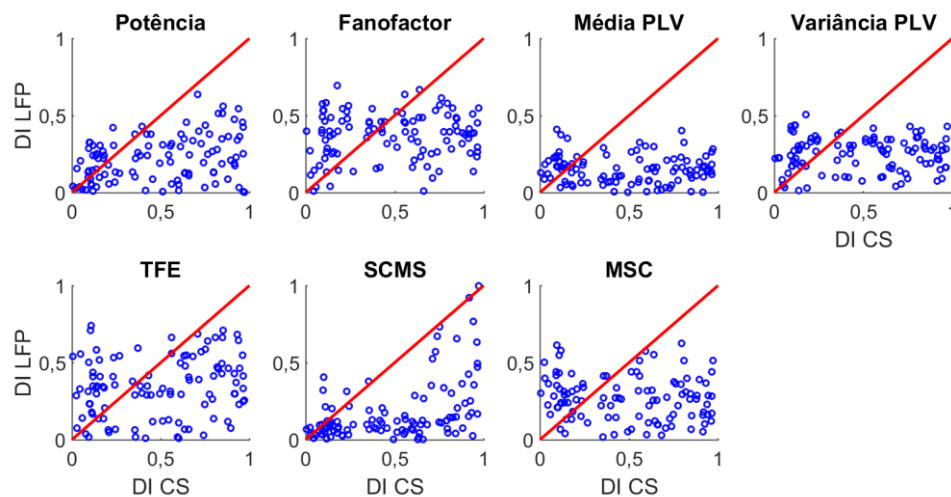


Figura 4.32 Gráficos de dispersão do DI na banda gama das métricas do LFP (Potência, Média do PLV, Variância do PLV, Fanofactor do PLV, TFE, SCMS e MSC) e da CS.

Tabela 4.2 Coeficiente de correlação de Spearman dos DIs para as métricas do LFP da CS em cada banda.

	Delta	Teta	Alfa	Beta	Gama	Gama baixa	Gama alta
Potência	0,06	0,12	0,00	0,14	0,31	0,34	0,35
TFE	0,02	-0,09	-0,07	0,02	0,18	0,13	0,23
Média							
PLV	-0,07	0,08	0,06	-0,05	-0,09	-0,18	-0,04
Variância							
PLV	-0,14	0,08	0,00	-0,25	0,03	0,12	0,17
Fanofactor							
PLV	-0,10	0,08	-0,04	-0,10	0,07	-0,02	0,26
SCMS	0,33	0,37	0,37	0,25	0,48	0,38	0,31
MSC	-0,06	0,09	-0,06	-0,12	-0,13	-0,20	-0,11

4.7.3 Variância circular de orientação (VCO) e direção (VCD)

A Figura 4.33 mostra o gráfico de dispersão da VCO para as métricas do LFP na banda gama e para CS. Assim como foi observado para o OI, é evidente que a variância é maior para as métricas do LFP do que para CS, o que reforça a ideia de maior seletividade à orientação na CS.

A Tabela 4.3 mostra os coeficientes de correlação de Spearman entre a VCO para as métricas do LFP e para CS em cada banda. A potência e o TFE apresentaram maiores valores de correlação nas bandas beta e gama, sendo eles maiores na potência do que no TFE. Já o SCMS apresentou coeficientes altos em todas as bandas. Por outro lado, as métricas do PLV e MSC mostraram baixos coeficientes. Além disso, os coeficientes encontrados para a VCO são maiores do que aqueles observados na OI.

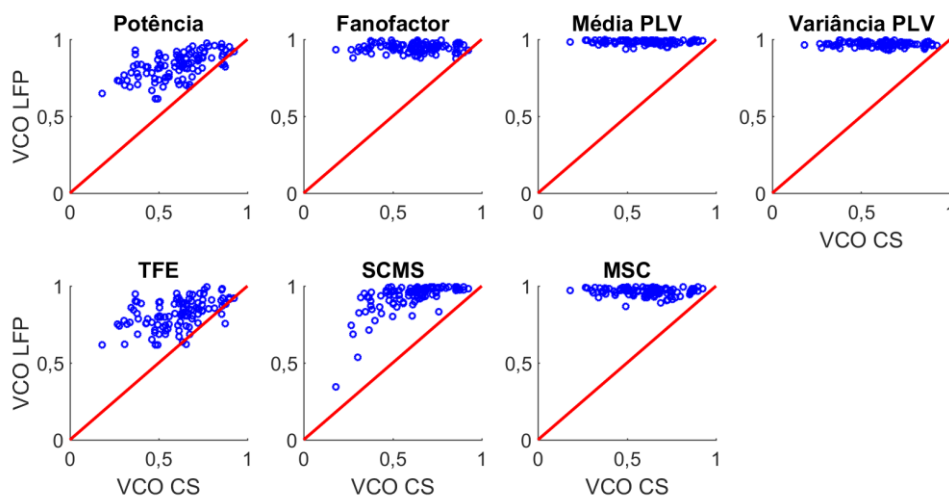


Figura 4.33 Gráfico de dispersão da variância circular de orientação para as métricas do LFP na banda gama e para CS.

Tabela 4.3 Coeficiente de correlação de Spearman da variância circular de orientação para as métricas do LFP e para CS em cada banda.

	Delta	Teta	Alfa	Beta	Gama	Gama baixa	Gama alta
Potência	0,31	-0,02	0,09	0,42	0,60	0,58	0,62
TFE	-0,01	0,14	0,14	0,37	0,50	0,47	0,52
Média PLV	0,15	0,20	0,04	0,10	-0,11	0,10	-0,01
Variância PLV	0,03	0,01	-0,18	0,00	-0,04	-0,08	0,13
Fanofactor PLV	0,08	-0,04	-0,11	-0,02	0,02	-0,04	0,18
SCMS	0,62	0,66	0,56	0,68	0,66	0,60	0,68
MSC	0,07	0,09	0,12	0,09	-0,14	0,10	-0,12

A Figura 4.34 mostra o gráfico de dispersão da VCD para as métricas da banda gama do LFP e para CS. Assim como foi observado para DI, a CS é mais seletiva à direção do que o LFP, pois apresenta menores valores de VCD.

Os coeficientes de correlação de Spearman de VCD entre LFP/CS são apresentados na Tabela 4.4. Três aspectos podem ser observados: i) baixos coeficientes para as métricas do PLV e MSC, ii) Coeficientes elevados na banda gama para a potência; iii) Coeficientes elevados para SCMS em todas as bandas. Note que o que os coeficientes para os parâmetros de variância circular são, de uma forma geral, maiores do que aqueles encontrados para os parâmetros OI e DI.

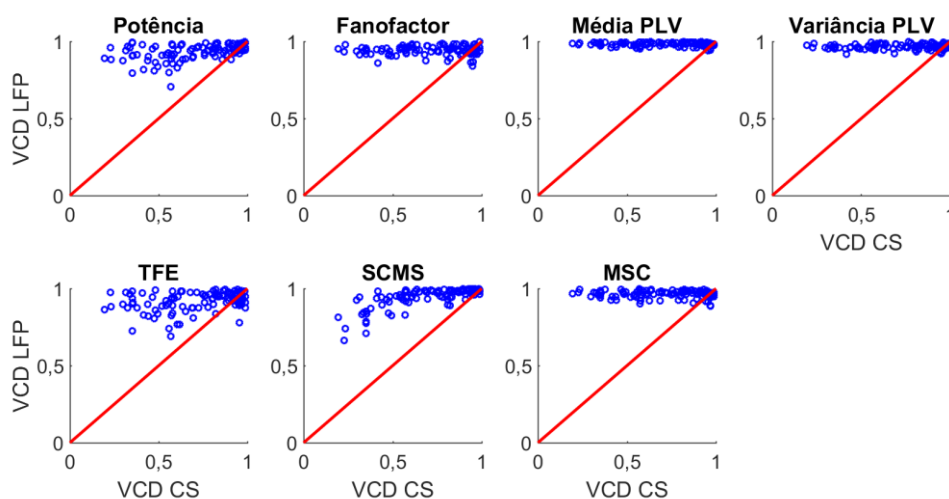


Figura 4.34 Gráfico de dispersão da variância circular de direção para as métricas do LFP e para CS na banda gama.

Tabela 4.4 Coeficiente de correlação de Spearman da VCD para as métricas do LFP e para CS em cada banda.

	Delta	Teta	Alfa	Beta	Gama	Gama baixa	Gama alta
Potência	-0,01	0,09	0,00	0,36	0,42	0,38	0,46
TFE	-0,04	-0,03	-0,19	0,19	0,28	0,24	0,31
Média PLV	-0,06	0,03	0,11	-0,13	-0,13	-0,05	-0,12
Variância PLV	-0,09	0,21	0,19	-0,19	0,05	0,11	0,11
Fanofactor PLV	-0,10	0,16	0,07	-0,14	0,12	0,09	0,13
SCMS	0,69	0,63	0,67	0,66	0,71	0,65	0,63
MSC	-0,05	0,02	0,23	-0,12	-0,13	-0,10	-0,08

Resumindo os resultados desta seção, obtivemos:

- Todos os quatro parâmetros unitários apresentaram coeficientes elevados para a potência nas bandas gama e beta (exceto o DI que apresentou apenas em gama);
- Os dois parâmetros de orientação (OI e VCO) apresentaram coeficientes de correlação maior na banda gama para o TFE.
- O SCMS apresentou coeficientes elevados em todas as bandas para a VCD e VCO. Entretanto seus coeficientes foram baixos para o OI e DI (exceto na banda gama).
- PLV e MSC não apresentaram coeficientes de correlação altos em nenhuma banda.
- Todos os parâmetros reforçam a ideia de que a CS é mais seletiva a orientação e direção do que o LFP.

5 Discussão

Este trabalho visou a avaliar se técnicas no domínio da frequência aplicadas ao LFP são capazes de preservar características da curva de sintonia (CS) estimada a partir da taxa de disparos de potenciais de ação (PA). Para tanto, foram avaliadas as métricas Potência, Teste F Espectral (TFE), Magnitude Quadrática da Coerência (MSC), *Phase Locking Value* (PLV) e *Spike Triggered Correlation Matrix Synchronization* (SCMS). Posteriormente, foram calculados índices de seletividade (Índice de Orientação - OI, Índice de Direção - DI, Variância Circular de Orientação – VCO, e Variância Circular de Direção - VCD) destas métricas e da CS para efeito de comparação.

Analisando-se a potência do LFP em cada banda, fica evidente que ela está concentrada nas baixas frequências, independentemente da orientação do estímulo, resultado já encontrado em diversos estudos prévios, tais como Berens *et al.*, (2008); Lashgari *et al.*, (2012) e Liu; Newsome, (2006). Além disso, Berens *et al.* (2008) e Jia; Smith; Kohn (2011) relataram um aumento de potência tão elevado na banda gama durante estímulo em uma determinada orientação que a tornou próxima daquela observada em baixas frequências. Este aspecto não foi encontrado no presente trabalho, embora se tenha verificado aumento na seletividade à orientação nesta faixa de frequência. Entretanto, tal aumento foi bem menos proeminente do que o encontrado nos estudos citados. Por outro lado, nossos resultados são condizentes com os de Katzner *et al.* (2009) que também não notaram alteração importante na potência em gama, mas reportaram sítios com seletividade à orientação.

Para a maioria dos casos investigados, verificou-se que a MUA é mais sintonizada do que a potência do LFP. De fato, Berens *et al.* (2008) e Jia; Smith; Kohn (2011) chegaram à mesma conclusão, porém, ambos utilizaram uma métrica chamada índice de sintonia para medir o quão seletivas são as curvas.

Particularmente, a banda gama alta apresentou sítios mais correlacionados neste estudo. Tal resultado, que também foi encontrado por Berens *et al.* (2008) e Jia; Smith; Kohn (2011), poderia ser explicado pela característica capacitiva do tecido cerebral de atenuar altas frequências. Esta característica faz com que propriedades de estímulo representadas em uma fina escala espacial, como a sintonia de orientação, por exemplo,

sejam refletidas apenas nas altas frequências do LFP. Isto sugere que a atividade da banda gama do LFP é gerada por um conjunto maior de neurônios que as populações locais medidas como MUA, já que o LFP é dominado por baixas frequências enquanto a MUA por altas frequências (BERENS *et al.*, 2008).

É esperado também que existam sítios onde a CS não siga as tendências da potência. Uma das possíveis causas seria o fato de, dentre as amostras observadas, existirem tanto neurônios sintonizados para direção quanto neurônios sintonizados para a orientação. Desta forma, as oscilações de alta frequência do LFP nem sempre são fortemente acopladas com a atividade local de populações de neurônios representada pela CS.

Além disso, alguns resultados na literatura ainda são um pouco controversos. O fato de que a banda gama possui a mesma orientação preferida que a MUA foi reportada por Katzner *et al.* (2009) e Liu; Newsome (2006). Tal resultado não é compartilhado por Berens *et al.* (2008) e Kreiman *et al.* (2006). Em Berens *et al.* (2008), por exemplo, foi encontrada uma fraca correlação entre as orientações preferidas do LFP e do MUA. Já em Lashgari *et al.* (2012) foi reportado que as orientações preferidas do LFP e do SUA são similares, com o LFP apresentando uma CS mais larga do que o SUA. Cabe salientar que, em ambos os estudos, o cálculo foi realizado de forma diferente da apresentada neste trabalho. Em Berens *et al.* (2008) foi usada uma métrica de correlação circular, já em Lashgari *et al.* (2012), a SUA foi convoluída com uma gaussiana, como uma etapa de pré-processamento para posteriormente calcular as métricas de correlação. Nenhum dos estudos calculou a similaridade entre a CS e a potência para todas as orientações, mas apenas para a orientação preferida de cada sítio.

A correlação entre a potência na banda gama e a CS pode ser afetada por diversos fatores externos, tais como tamanho das grades senoidais e a presença de ruído branco no estímulo visual (JIA; SMITH; KOHN, 2011). Isto poderia ser uma das razões que explicaria porque em alguns trabalhos a potência da banda gama do LFP apresenta alta correlação com a CS (LIU; NEWSOME, 2006; KATZNER *et al.*, 2009) enquanto em outros, não (KREIMAN *et al.*, 2006; BERENS *et al.*, 2008). Os trabalhos de Jia; Smith; Kohn (2011) e Katzner *et al.* (2009) encontraram resultados mais próximos do presente estudo. Particularmente, Jia; Smith; Kohn (2011) calcularam o coeficiente de correlação de Pearson entre a CS da MUA e as potências das bandas do LFP e

reportaram que as componentes de alta frequência do LFP e a CS são mais similares e sintonizadas do que as baixas frequências. As principais diferenças de processamento do trabalho de Jia; Smith; Kohn (2011) para o nosso são: i) utilização do LFP induzido (aquele obtido a partir da subtração de cada janela da média coerente de todas as janelas; usualmente referenciado na literatura como *time-locked but non-phase-locked response*); ii) estimativa espectral por *multitaper*; enquanto no presente foram empregadas as janelas de sinal para cada orientação e estimativa espectral por Periodograma de Bartlett.

Em nenhum dos trabalhos citados, o modelo animal empregado foi a coruja, o que poderia resultar em diferenças relevantes nos resultados. Alguns estudos (PETTIGREW; KONISHI, 1976; LIU; PETTIGREW, 2003) apontam que o *wulst* visual de corujas possui colunas de orientação, assim como observado no V1 de primatas (HUBEL; WIESEL, 1977). Entretanto, o estudo de Liu; Pettigrew (2003) mostrou, por meio de imageamento óptico, que as colunas de orientação no *wulst* são cerca de 3 vezes maiores do que aquelas observadas em V1. Desta forma, quando a população neuronal responsável por gerar o sinal de LFP for composta de células com orientações preferenciais semelhantes, o LFP se torna mais seletivo à orientação e, conseqüentemente, maior será sua similaridade com a SUA. Assim, ao apresentar colunas de orientação maiores, é esperado que a similaridade LFP/SUA seja maior no *wulst*, o que de fato aconteceu, se compararmos os coeficientes de correlação deste trabalho com os reportados por Jia; Smith; Kohn (2011). Entretanto, não podemos afirmar se esta diferença ocorre devido a metodologias distintas empregadas nos trabalhos ou se se deve apenas ao tamanho das colunas.

Como observado a partir dos diagramas de caixa de correlação, nas baixas frequências, a correlação entre a CS e a potência do LFP é baixa. Uma explicação para este resultado foi especulada por Lashgari *et al.* (2012): como o tecido cerebral age como filtro passa-baixas, as componentes de baixa frequência do LFP viajam distâncias maiores. Assim, bandas como delta, teta e alfa agregam sinais de neurônios que podem estar situados bem distantes e com distintas orientações preferencias. Logo, embora o LFP seja dominado por atividade neuronal sináptica, pode também conter componentes de baixa frequência dos *spikes* de neurônios distantes, o que poderia explicar a ocorrência de alguns sítios com correlação relativamente alta mesmo nas baixas frequências.

Outro fator que pode influenciar a correlação entre qualquer métrica relacionada ao LFP com a CS é a área de exposição metálica do eletrodo, pois pontas maiores tendem a agrupar sinais de regiões corticais maiores, ou seja, de neurônios com diferentes propriedades de resposta ao estímulo. Entradas sinápticas não sintonizadas provenientes do tálamo, por exemplo, poderiam contribuir para diminuir a sintonia do LFP comparado à MUA; porém, ainda não existem evidências definitivas a esse respeito (BERENS *et al.*, 2008). Especula-se que conexões laterais ou projeções retroalimentadas provenientes de outras áreas corticais com seletividade à orientação distinta de neurônios no sítio de investigação possam ser responsáveis pela baixa correlação em alguns destes sítios (BERENS *et al.*, 2008).

Outro fator apontado por Berens *et al.* (2008) que poderia explicar a baixa correlação observada para alguns sítios seria a possibilidade de posicionamento do eletrodo no limite entre colunas de orientação, ao invés do posicionamento no centro de uma dada coluna (orientação preferencial bem definida). Nesta condição, apenas a MUA refletiria bem o processamento local e a seletividade à orientação, enquanto esta característica ficaria prejudicada quando medida a partir do LFP.

Por se tratar de uma técnica derivada a partir da potência do LFP e negligenciar a fase, seria esperado que boa parte dos resultados encontrados na potência fossem também observados no TFE. De fato, ambas as métricas apresentaram maiores coeficientes de correlação entre CS e LFP na banda gama. Contudo, tanto o coeficiente de correlação quanto o número de sítios que apresentaram similaridade LFP/CS foram maiores na potência. Além disso, todos os sítios onde o TFE reproduziu a CS na banda gama também reproduziu na potência. O contrário não foi observado, pois existem sítios em que apenas a potência seguiu a CS. Logo, a potência preservou melhor as características da CS do que o TFE.

Além disso, por utilizar apenas a magnitude do espectro no processamento, os mesmos fatores que afetam a relação potência/CS podem influenciar também a similaridade entre TFE/CS, sendo eles: posição do eletrodo no limite entre colunas de orientação, entradas não sintonizadas vindas do tálamo, área de exposição metálica do eletrodo (BERENS *et al.*, 2008), filtragem do tecido cerebral (LASHGARI *et al.*, 2012), presença de ruído branco no estímulo e tamanho das grades senoidais (JIA; SMITH; KOHN, 2011). Nossos resultados mostram que o TFE detectou a variação de potência

devido ao estímulo em todas as bandas em boa parte das orientações, o que não foi observado qualitativamente por Berens *et al.* (2008) e Jia; Smith; Kohn (2011), que reportaram variação de potência apenas nas orientações preferenciais na banda gama.

Como o LFP é composto principalmente por atividade neuronal sináptica, a variação de potência detectada pelo TFE poderia indicar também alteração de atividade sináptica. Assim, o estudo das relações entre o TFE/CS poderia mostrar até que ponto a atividade de uma única célula – descrita pela CS - pode influenciar a variação de atividade sináptica - representada pelo TFE - de uma população de neurônios responsável por gerar o sinal de LFP. Ao seguir a CS em alguns sítios, o TFE sugere que o estímulo causa tanto aumento na atividade neuronal sináptica como também a elevação na saída local de um único neurônio. Em outros sítios, nos quais o TFE não possui similaridade com a CS, a alteração de potência indicaria também mudanças na atividade sináptica, porém esta não é afetada pela saída de um único neurônio.

Até onde sabemos, o uso do TFE no contexto da seletividade à orientação no LFP é inédito. Entretanto, não chega a ser surpreendente que o TFE detecte variação de potência devido ao estímulo, pois tal característica já foi observada no EEG (MELGES, 2009; MELGES; INFANTOSI; MIRANDA DE SÁ, 2011; SILVA *et al.*, 2013). Cabe salientar que nestes estudos o protocolo experimental e o sinal registrado foram diferentes do nosso. Além disso, a forma com que o TFE foi calculado nos estudos de Melges, (2009); Melges, Infantsi e Miranda de sá (2011); Silva *et al.* (2013) foi diferente da utilizada neste trabalho, pois tais autores avaliaram a variação de potência em uma dada frequência, não em uma banda inteira, como realizado neste estudo. Entretanto, ao apresentar seletividade à orientação na banda gama em boa parte dos sítios, o TFE mostra ser uma técnica promissora para o estudo de seletividade à orientação e do LFP.

O fato de nenhuma métrica do PLV ter seguido a CS neste trabalho, poderia indicar que mesmo nas orientações preferenciais, não existe um aumento de sincronismo ao longo de diferentes janelas do LFP. Devido ao aumento de potência nas orientações preferenciais, se poderia esperar um alinhamento de fase no LFP em diferentes janelas, o que não foi observado neste estudo. Ou seja, a variação de fase no LFP não demonstrou nenhum padrão para qualquer das orientações de estimulação. Isto pode ser um indício de que o aumento de potência na banda gama nas orientações

preferenciais ocorre devido apenas ao aumento de magnitude do espectro, e não por alinhamento de fase das componentes espectrais.

Apesar do PLV ser uma técnica muito utilizada na literatura, a abordagem dada ao PLV foi distinta de boa parte dos trabalhos. O primeiro estudo que propôs a técnica, feito por Jean-Philippe *et al.* (1999), investigava se o tempo de ocorrência dos PAs estava associado a alguma fase do LFP. As principais diferenças do estudo de Jean-Philippe *et al.* (1999) para o nosso são: i) o registro do LFP foi feito em humanos em tarefas de discriminação visual, logo a seletividade à orientação não era o fenômeno estudado; ii) neste estudo analisamos a sincronia CS/LFP na frequência, enquanto Jean-Philippe *et al.* (1999) utilizou de técnicas tempo-frequência – como a Transformada Discreta de Hilbert – para analisar o sincronismo.

Em um estudo realizado com gatos e cutias, Patriota (2019) também investigou se o tempo de ocorrência de um PA estava associado a determinadas fases do LFP na banda gama baixa. Nossos resultados divergem deste trabalho, no qual se observou alta correlação entre as orientações preferenciais do PLV e a CS nos gatos. O mesmo não foi encontrado nas cutias, devido à ausência de colunas de orientação nesta espécie. Além de estimar a fase empregada para o cálculo do PLV por meio de técnica tempo-frequência, o processamento feito por Patriota (2019) também difere do nosso por extrair a fase do LFP somente no instante de disparo de PAs. Cabe salientar que, para o cálculo da correlação, o estudo de Patriota (2019) considerou apenas sítios nos quais as orientações preferenciais da potência e CS foram similares, além de ter excluído outros que não apresentaram seletividade à orientação significativa na potência. E neste trabalho, as correlações foram calculadas para todos os sítios.

Estas diferenças de processamento levam a distintas interpretações do PLV. Tanto o estudo de Jean-Philippe *et al.* (1999) quanto o de Patriota (2019) calcularam a sincronização do LFP/PA, enquanto o nosso estimou a sincronia do LFP com o estímulo. Além disso, a maior parte dos estudos que abordaram o PLV (JEAN-PHILIPPE *et al.*, 1999; LOWET *et al.*, 2016; PATRIOTA, 2019) usaram técnicas tempo-frequência para analisar a sincronia LFP/PA. Neste estudo, a técnica empregada para tal finalidade foi o SCMS, não o PLV, o que dificulta uma comparação direta entre os nossos resultados com PLV e os da literatura.

Por outro lado, tais resultados do PLV poderiam indicar que a resposta sensorial do LFP é induzida e não evocada, ou seja, o LFP sofre alterações causadas pelo estímulo, mas não síncronas.

Por se tratar de uma técnica mais recente, existe apenas um estudo abordando SCMS com seletividade à orientação, realizado com macacos (LI; GAO; WANG, 2019). A diferença deste estudo para o nosso é que Li; Gao; Wang (2019) calcularam o SCMS apenas na banda gama em V1 e V4, a fim de analisar o grau de conectividade entre essas regiões e sua dependência com a orientação do estímulo, não sendo avaliada a reprodutibilidade da CS a partir do SCMS, como feito neste trabalho. Mesmo com essas divergências, é possível realizar uma comparação qualitativa entre os resultados obtidos neste trabalho com os reportados por Li; Gao; Wang (2019). Em ambos os estudos, a sincronização LFP/PA demonstrou seletividade à orientação, o que mostra que ela pode distinguir características de resposta ao estímulo.

Além disso, uma explicação para o fato de alguns sítios e orientações possuírem alto SCMS foi dada por Li; Gao; Wang (2019). Como o LFP é composto de potenciais pós-sinápticos excitatórios e inibitórios na vizinhança do eletrodo de registro, enquanto a CS compreende uma atividade local, a relação de sincronização entre o trem de PAs disparados por um neurônio e o LFP pode ser entendida como a conexão entre um único neurônio e múltiplos neurônios ao redor dele. Logo, altos valores de SCMS (próximos a 1) sugerem que a atividade de um único neurônio é mais afetada pela rede composta de neurônios periféricos.

A questão do SCMS ter apresentado similaridade em alguns sítios entre o LFP/SUA, ao contrário do que foi observado em outras técnicas de fase, mostra que a fase do LFP pode possuir informações relevantes sobre a CS. Entretanto, cabe salientar que, diferentemente das outras técnicas que utilizam apenas o LFP no processamento, o algoritmo do SCMS usa tanto informações do LFP quanto dos potenciais de ação, o que poderia ser uma das possíveis causas da similaridade SCMS/CS em alguns sítios.

O fato da sincronização LFP na banda gama e PA possuir alta correlação com a CS não é surpreendente, pois diversos estudos já citados mostram a importância da banda gama na codificação sensorial (FRIEN *et al.*, 2000; LIU; NEWSOME, 2006; BERENS. P, KELIRIS. GA, ECKER. AS, LOGOTHETIS. NK, 2008; LASHGARI *et al.*, 2012; MINEAULT; ZANOS; PACK, 2013). Com relação a bandas de baixa

frequência, alguns estudos como o de Lashgari *et al.* (2012), por exemplo, mostram o papel das bandas delta, teta e alfa em propriedades como seletividade de direção, contraste e frequência temporal, respectivamente. Desta forma, o fato do SCMS ter seguido a CS em todas as bandas de frequência não seria totalmente surpreendente no córtex visual.

Assim como explicado para o TFE, ainda não existem trabalhos na literatura que empregaram técnicas ORD para reproduzir a CS, como a MSC aplicada ao LFP. Entretanto, alguns trabalhos utilizaram a MSC para estudar a conectividade entre diferentes regiões do cérebro no LFP, como por exemplo Leopold; Logothetis (2003). Neste trabalho, a coerência é calculada entre dois sítios de registro, diferente do nosso caso em que está é estimada entre LFP e estímulo. Os estudos em que o processamento foi mais semelhante ao nosso, porém aplicado a sinais de EEG foram Melges; Miranda de Sá; Catelli Infantosi (2012) e Silva *et al.* (2013). Contudo, assim como o PLV, a MSC não conseguiu reproduzir a CS, o que reforça a hipótese de ausência de sincronismo de fase entre LFP e PAs.

A partir dos resultados obtidos para os índices de seletividade (OI, DI, VCO e VCD), observou-se que, por ser a técnica que melhor reproduziu a CS, a potência apresentou correlações elevadas em todos os parâmetros calculados na banda gama. Tal resultado já seria esperado devido à elevada similaridade entre a potência e a CS. Além disso, o formato estreito da CS em relação à potência indicava que o LFP seria menos seletivo à orientação e direção. Os quatro parâmetros unitários confirmaram matematicamente esta hipótese. Esta afirmação vai ao encontro do que foi reportado por BERENS *et al.* (2008), que também utilizou OI e DI, chegando a conclusões semelhantes. Entretanto, Berens *et al.* (2008) não calcularam a VCD e a VCO.

Por ter reproduzido a CS em vários sítios, seria esperado que o SCMS apresentasse coeficientes elevados em todos os 4 parâmetros, não apenas nas variâncias (VCO e VCD). Uma possível explicação para este resultado foi dada por Mazurek; Kager e Van Hooser (2014), que argumentaram que a VCO/VCD são estimadores de seletividade melhores que OI/DI, logo representam melhor a relação entre SCMS e CS.

Por fim, como era de se esperar, as técnicas que não conseguiram reproduzir a CS a partir do LFP (MSC e PLV) apresentaram baixos coeficientes nos quatro

parâmetros. Do ponto de vista matemático, tal resultado é bem evidente, pois se as curvas são distintas, os parâmetros calculados a partir delas também serão.

6 Conclusão

Dentre todas as técnicas utilizadas neste trabalho para tentar reproduzir a CS a partir do LFP, com base nos resultados encontrados, pode-se dividi-las em três grupos:

- i. aquelas em que o LFP apresentou similaridade com a CS em boa parte dos sítios nas bandas beta e/ou gama: potência e TFE
- ii. aquela em que o LFP apresentou similaridade com a CS em boa parte dos sítios em todas as bandas, exceto em delta: SCMS
- iii. aquelas em que o LFP não apresentou nenhuma tendência tampouco similaridade com a CS em para qualquer sítio ou banda: PLV e MSC.

Assim, a MSC e o PLV foram as técnicas que pior reproduziram a CS a partir dos parâmetros do LFP. No TFE e na potência, métricas que envolvem apenas a magnitude, o LFP seguiu a CS em boa parte dos sítios nas bandas beta e/ou gama. Isto poderia ser um indício de que a resposta ao estímulo no LFP é induzida, mas não evocada, ou seja, a potência é modulada pelo estímulo, mas não possui sincronismo. O fato da MSC, que utiliza tanto a magnitude quanto a fase não ter reproduzido a CS confirmaria esta hipótese. Entretanto, diferentemente de outras técnicas de fase, a SCMS reproduziu a CS em alguns sítios, o que pode ser explicado pelo fato de que tal técnica é calculada com relação aos instantes de ocorrência de PAs e não em relação aos instantes de estimulação.

Como propostas de continuidade deste trabalho, sugere-se:

- avaliar melhor a relação da fase do LFP com a CS, utilizando outras técnicas de sincronismo, como o SFC e o PPC, por exemplo. Estas técnicas podem ser úteis para comparar com os resultados da SCMS.
- realizar modelagem matemática das curvas polares encontradas neste trabalho, por exemplo, por meio da função de Von Mises, amplamente empregada na literatura e avaliar se a relação entre LFP/CS se mantém mesmo utilizando as funções de ajuste.
- utilizar técnicas matemáticas, como por exemplo a análise SDO proposta por ZHANG (2005), para separar a CS e o LFP em duas componentes: uma que

possui apenas seletividade à orientação e outra que possui somente seletividade de direção e avaliar a correlação LFP/CS em cada componente.

- mapear a localização dos sítios de registro no *wulst*, e comparar com um mapa de orientações preferenciais formado por técnicas de imageamento, a fim de avaliar como a distância do eletrodo até o ponto de singularidade pode afetar as relações LFP/SUA.
- repetir as técnicas de processamento utilizadas neste trabalho em outra espécie de coruja, como, por exemplo, a buraqueira (espécie *Athene cunicularia*), para verificar se as propriedades LFP/SUA são similares às encontradas para a *Tyto Alba*.

Além das sugestões de continuidade apontadas, seria interessante avaliar a relação LFP/SUA para registros de ambas as corujas (*Tyto Alba* e *Athene Cunicularia*) em diferentes condições experimentais - coruja acordada, durante sono e sedada – para verificar se o estado do animal altera os resultados.

Referências Bibliográficas

AMORIM, C. S. **Estudo da seletividade neuronal à orientação e frequência espacial no wulst visual da coruja suindara (Tyto alba): dinâmica de surgimento e separabilidade interdimensional.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

AMORIM, C. S. D. E. **Invariância ao contraste no wulst visual.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

ARMSTRONG, C. M.; HILLE, B. Voltage-gated ion channels and electrical excitability. **Neuron**, v. 20, n. 3, p. 371–380, 1 mar. 1998.

AYDORE, S.; PANTAZIS, D.; LEAHY, R. M. A note on the phase locking value and its properties. **NeuroImage**, v. 74, p. 231–244, 1 jul. 2013.

MELGES, D.; MIRANDA DE SÁ, A. M. F. L.; CATELLI INFANTOSI, A. F. Frequency-Domain Objective Response Detection Techniques Applied to Evoked Potentials: A Review. **Applied Biological Engineering - Principles and Practice**, 2012.

BARLOW, H. B.; HILL, R. M.; LEVICK, W. R. Retinal ganglion cells responding selectively to direction and speed of image motion in the rabbit. **The Journal of physiology**, v. 173, p. 377–407, out. 1964.

BARON, J. et al. Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. **European Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 7, p. 1950–1968, out. 2007.

BARTLETT, M. S. **Smoothing periodograms from time-series with continuous spectra** [13]**Nature**, 1948.

BATSCHULET, E. **Circular statistics in biology** BT - **Mathematics in biology**. London: Academic Press, 1981.

BERENS. P, KELIRIS. GA, ECKER. AS, LOGOTHETIS. NK, T. A. Feature selectivity of the gamma-band of the local field potential in primate primary visual cortex. **Frontiers in neuroscience**, v. 2, n. 2, p. 199–207, 2008.

BERENS, P. et al. Comparing the feature selectivity of the gamma-band of the local field potential and the underlying spiking activity in primate visual cortex. v. 2, n. June, p. 1–11, 2008.

BUZSÁKI, G.; ANASTASSIOU, C. A.; KOCH, C. The origin of extracellular fields and currents — EEG , ECoG , LFP and spikes. v. 13, n. June, 2012.

CARTER, G. C.; KNAPP, C. H.; NUTTALL, A. H. Estimation of the Magnitude-Squared Coherence Function Via Overlapped Fast Fourier Transform Processing. **IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics**, v. 21, n. 4, p. 337–344, 1973.

CHEONG, S. K. et al. Cortical-like receptive fields in the lateral geniculate nucleus of marmoset monkeys. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 16, p. 6864–76, 17 abr. 2013.

DETTNER, A.; MÜNZZBERG, S.; TCHUMATCHENKO, T. ARTICLE Temporal pairwise spike correlations fully capture single-neuron information. **Nature Communications**, v. 7, 2016.

DOBIE, R. A. et al. A comparison of t test , F test , and coherence methods of detecting steady-state auditory-evoked potentials , distortion-product otoacoustic emissions , or other sinusoids. v. 2236, n. 1996, 2007.

DOBIE, R. A.; WILSON, M. J. Analysis of auditory evoked potentials by magnitude-squared coherence. **Ear and Hearing**, v. 10, n. 1, p. 2–13, 1989.

DRÄGER, U. C. Receptive fields of single cells and topography in mouse visual cortex. **The Journal of comparative neurology**, v. 160, n. 3, p. 269–90, 1 abr. 1975.

ENGEL, A. K.; FRIES, P.; SINGER, W. Dynamic predictions : oscillations and synchrony in top – down processing. v. 2, n. October, p. 704–716, 2001.

FELIX, L. B. **Detecção objetiva de respostas auditivas em regime permanente: aplicação em exames audiológicos.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

FERNANDO, A.; INFANTOSI, C.; LAZAREV, V. V. Detecção de resposta a fotoestimulação intermitente no eletroencefalograma utilizando o teste F -Espectral

Detecting responses to. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, p. 25–36, 2005.

FERSTER, D.; CHUNG, S.; WHEAT, H. Orientation selectivity of thalamic input to simple cells of cat visual cortex. **Nature**, v. 380, n. 6571, p. 249–252, 21 mar. 1996.

FRIEN, A. et al. Fast oscillations display sharper orientation tuning than slower components of the same recordings in striate cortex of the awake monkey. v. 12, p. 1453–1465, 2000.

FRIES, P. et al. The effects of visual stimulation and selective visual attention on rhythmic neuronal synchronization in macaque area V4. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 18, p. 4823–4835, 30 abr. 2008.

GAIL, A.; BRINKSMEYER, H. J.; ECKHORN, R. Perception-related Modulations of Local Field Potential Power and Coherence in Primary Visual Cortex of Awake Monkey during Binocular Rivalry. **Cerebral Cortex**, v. 14, n. 3, p. 300–313, 2004.

GRASSE, D. W.; MOXON, K. A. Correcting the bias of spike field coherence estimators due to a finite number of spikes. **Journal of Neurophysiology**, v. 104, n. 1, p. 548–558, 2010.

HARMENING, W. M. et al. Spatial contrast sensitivity and grating acuity of barn owls. **Journal of vision**, v. 9, n. 7, p. 13, 22 jul. 2009.

HENRIE, J. A.; SHAPLEY, R. LFP Power Spectra in V1 Cortex : The Graded Effect of Stimulus Contrast. p. 479–490, 2019.

HERRERAS, O. Local Field Potentials : Myths and Misunderstandings. v. 10, n. December, p. 1–16, 2016.

HUBEL, D. H.; WIESEL, T. N. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. **The Journal of physiology**, v. 160, n. 1, p. 106–154, 1962.

HUBEL, D. H.; WIESEL, T. N. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. **Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences**, v. 190, n. 1130, p. 1–59, 1977.

INFANTOSI, A. F. C.; MIRANDA DE SÁ, A. M. F. L. A coherence-based technique for separating phase-locked from non-phase-locked power spectrum estimates during intermittent stimulation. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 156, n. 1–2, p. 267–274, 30 set. 2006.

JEAN-PHILIPPE, L. et al. Measuring phase synchrony in brain signals. **Human brain mapping**, v. 8, p. 194–208, 1999.

JIA, X.; SMITH, M. A.; KOHN, A. Stimulus selectivity and spatial coherence of gamma components of the local field potential. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 25, p. 9390–9403, 2011.

JONES, M. P.; PIERCE, K. E.; WARD, D. Avian Vision: A Review of Form and Function with Special Consideration to Birds of Prey. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 16, n. 2, p. 69–87, abr. 2007.

KANJI, G. **100 Statistical Tests**. 3ª ed. Londres: SAGE Publications Ltd, 2012.
v. Inic

KARTEN, H. J. et al. Neural connections of the “visual wulst” of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). **Journal of Comparative Neurology**, v. 150, n. 3, p. 253–277, 1973.

KATZNER, S. et al. Local Origin of Field Potentials in Visual Cortex. **Neuron**, 2009.

KAY, S. M. **Intuitive probability and random processes using MATLAB**. [s.l.] Springer, 2006.

KONDO, S.; OHKI, K. Laminar differences in the orientation selectivity of geniculate afferents in mouse primary visual cortex. **Nature Neuroscience**, v. 19, n. 2, p. 316–319, 27 jan. 2016.

KREIMAN, G. et al. Object selectivity of local field potentials and spikes in the macaque inferior temporal cortex. **Neuron**, v. 49, n. 3, p. 433–445, 2 fev. 2006.

LASHGARI, R. et al. Response Properties of Local Field Potentials and Neighboring Single Neurons in Awake Primary Visual Cortex. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 33, p. 11396–11413, 2012.

LEOPOLD, D. A.; LOGOTHETIS, N. . Spatial Patterns of Spontaneous Local Field Activity in the Monkey Visual Cortex. **Reviews in the Neurosciences**, v. 14, n. 1–2, p. 195–205, jan. 2003.

LEPAGE, K. Q.; KRAMER, M. A.; EDEN, U. T. The dependence of spike field coherence on expected intensity. **Neural Computation**, v. 23, n. 9, p. 2209–2241, 2011.

LI, X. et al. Synchronization measurement of multiple neuronal populations. **Journal of Neurophysiology**, v. 98, n. 6, p. 3341–3348, dez. 2007.

LI, Z.; CUI, D.; LI, X. Unbiased and robust quantification of synchronization between spikes and local field potential. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 269, n. 19, p. 33–38, 2016.

LI, Z.; GAO, M.; WANG, Y. The Orientation Selectivity of Spike-LFP Synchronization in Macaque V1 and V4. **Frontiers in Computational Neuroscience**, v. 13, n. July, p. 1–8, 2019.

LIEN, A. D.; SCANZIANI, M. Tuned thalamic excitation is amplified by visual cortical circuits. **Nature Neuroscience**, v. 16, n. 9, p. 1315–1323, 11 set. 2013.

LIU, G. BIN; PETTIGREW, J. D. Orientation mosaic in barn owl's visual Wulst revealed by optical imaging: Comparison with cat and monkey striate and extra-striate areas. **Brain Research**, v. 961, n. 1, p. 153–158, 24 jan. 2003.

LIU, J.; NEWSOME, W. T. Local Field Potential in Cortical Area MT: Stimulus Tuning and Behavioral Correlations. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 30, p. 7779–7790, 2006.

LOGOTHETIS, N. K.; KAYSER, C.; OELTERMANN, A. In Vivo Measurement of Cortical Impedance Spectrum in Monkeys: Implications for Signal Propagation. **Neuron**, v. 55, n. 5, p. 809–823, 6 set. 2007.

LOWET, E. et al. Quantifying neural oscillatory synchronization: A comparison between spectral coherence and phase-locking value approaches. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, 8 jan. 2016.

MANLEY, G. Public Access NIH Public Access. v. 71, n. 2, p. 233–236, 2013.

MAZUREK, M.; KAGER, M.; VAN HOOSER, S. D. Robust quantification of orientation selectivity and direction selectivity. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 8, n. AUG, p. 1–17, 2014.

MELGES, D. B. Aplicação de Técnicas de Detecção Objetiva Uni e Multivariadas no domínio da frequência ao EEG Durante estimulação somato-sensitiva. p. 127, 2009.

MELGES, D. B.; INFANTOSI, A. F. C.; MIRANDA DE SÁ, A. M. F. L. Using Objective Response Detection techniques for detecting the tibial somatosensory evoked response with different stimulation rates. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 195, n. 2, p. 255–260, 15 fev. 2011.

MINEAULT, P. J.; ZANOS, T. P.; PACK, C. C. Local field potentials reflect multiple spatial scales in V4. **Frontiers in Computational Neuroscience**, v. 7, n. March, p. 1–15, 2013.

MIRANDA DE SÁ, A. M. F. L. et al. Spectral F-test power evaluation in the eeg during intermittent photic stimulation. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 64, n. 2 A, p. 228–232, 2006.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 7, p. 660–663, 1999.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Horizontal-Disparity Tuning of Neurons in the Visual Forebrain of the Behaving Barn Owl. **Journal of Neurophysiology**, v. 83, n. 5, p. 2967–2979, 1 maio 2000.

NIEDERMEYER, E. 9 . The Normal EEG of the Waking Adult. 1999.

O., I.; AMOS, D. E.; KOOPMANS, L. H. Tables of the Distribution of the Coefficient of Coherence for Stationary Bivariate Gaussian Processes. **Journal of the American Statistical Association**, v. 58, n. 304, p. 1202, 1 mar. 1963.

PATRIOTA, J. . N. **Orientation selectivity in cat and agouti primary visual cortex as reflected in firing rates, LFP gamma oscillations and phase relationships**. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2019.

PESARAN, B. et al. Temporal structure in neuronal activity during working

memory in macaque parietal cortex. 2002.

PETTIGREW, J.; KONISHI, M. Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual Wulst of the barn owl (*Tyto alba*). **Science**, v. 193, n. 4254, p. 675–678, 20 ago. 1976.

PIERSOL, A. G.; BENDAT, J. S. **Random data : analysis and measurement procedures**. [s.l.: s.n.].

PRIEBE, N. J. Mechanisms of Orientation Selectivity in the Primary Visual Cortex. **Annual Review of Vision Science**, v. 2, n. 1, p. 85–107, 2016.

RINGACH, D. L.; HAWKEN, M. J.; SHAPLEY, R. Dynamics of orientation tuning in macaque primary visual cortex. **Nature**, v. 387, n. 6630, p. 281–284, 1997.

SALELKAR, S.; SOMASEKHAR, G. M.; RAY, S. Distinct frequency bands in the local field potential are differently tuned to stimulus drift rate. **Journal of Neurophysiology**, v. 120, n. 2, p. 681–692, 2018.

SANTOS FILHO, S. A. et al. Magnitude squared of coherence to detect imaginary movement. **Eurasip Journal on Advances in Signal Processing**, v. 2009, 2009.

SCHERBERGER, H.; JARVIS, M. R.; ANDERSEN, R. A. Cortical local field potential encodes movement intentions in the posterior parietal cortex. **Neuron**, v. 46, n. 2, p. 347–354, 21 abr. 2005.

SCHOLL, B. et al. Emergence of Orientation Selectivity in the Mammalian Visual Pathway. 2013.

SCLAR, G.; FREEMAN, R. D. Orientation selectivity in the cat's striate cortex is invariant with stimulus contrast. **Experimental Brain Research**, v. 46, n. 3, p. 457–461, 3 jun. 1982.

SHIMIZU, T.; BOWERS, A. N. Visual circuits of the avian telencephalon: Evolutionary implications. **Behavioural Brain Research**, v. 98, n. 2, p. 183–191, 1 fev. 1999.

SILVA, J. J. et al. **Objective response detection of multiple auditory steady-**

state responses: Rice detector vs component synchrony measure. Journal of Physics: Conference Series. **Anais...**Institute of Physics Publishing, 2013

SRINATH, R.; RAY, S. Effect of amplitude correlations on coherence in the local field potential. **Journal of Neurophysiology**, v. 112, n. 4, p. 741–751, 15 ago. 2014.

STEINBACH, M. J.; ANGUS, R. G.; MONEY, K. E. **Torsional eye movements of the owl****Vision Research**, 1974.

SWINDALE, N. V. Orientation tuning curves: Empirical description and estimation of parameters. **Biological Cybernetics**, v. 78, n. 1, p. 45–56, 1998.

TANAKA, K. Cross-correlation analysis of geniculostriate neuronal relationships in cats. **Journal of neurophysiology**, v. 49, n. 6, p. 1303–18, jun. 1983.

THEILER, J. et al. Testing for nonlinearity in time series: the method of surrogate data. **Physica D: Nonlinear Phenomena**, v. 58, n. 1–4, p. 77–94, 15 set. 1992.

VAN DER WILLIGEN, R. F.; FROST, B. J.; WAGNER, H. How owls structure visual information. **Animal Cognition**, v. 6, n. 1, p. 39–55, 2003.

VAN DER WILLIGEN, R.; FROST, B.; WAGNER, H. Depth generalization from stereo to motion parallax in the owl. **Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 187, n. 12, p. 997–1007, 1 jan. 2002.

VINCK, M. et al. The pairwise phase consistency: A bias-free measure of rhythmic neuronal synchronization. **NeuroImage**, v. 51, n. 1, p. 112–122, 2010.

WANG, Y. C.; FROST, B. J. Visual response characteristics of neurons in the nucleus isthmi magnocellularis and nucleus isthmi parvocellularis of pigeons. **Experimental Brain Research**, v. 87, n. 3, p. 624–633, dez. 1991.

WATSON, A.; RAMIREZ, C. V.; SALUD, E. Predicting visibility of aircraft. **PLoS ONE**, v. 4, n. 5, 20 maio 2009.

ZAREI, M.; JAHED, M.; DALIRI, M. R. Introducing a comprehensive framework to measure spike-LFP coupling. **Frontiers in Computational**

Neuroscience, v. 12, n. October, p. 1–11, 2018.

ZHANG, J. Method of unconfounding orientation and direction tunings in neuronal response to moving bars and gratings. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 22, n. 10, p. 2246, 2005.

ZHANG, Y. et al. Functional connectivity between prefrontal cortex and striatum estimated by phase locking value. **Cognitive Neurodynamics**, v. 10, n. 3, p. 245–254, 1 jun. 2016.