

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

ANA LUIZA TURCHETTI MAIA

Modulação centro-contorno  
em campos receptivos do wulst visual

Belo Horizonte – MG

2011

ANA LUIZA TURCHETTI MAIA

Modulação centro-contorno  
em campos receptivos do wulst visual

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

Orientador: Prof. Dr. Jerome Baron

Belo Horizonte – MG

2011

**“MODULAÇÃO CENTRO-CONTORNO EM CAMPOS RECEPTIVOS DO  
WULST VISUAL”**

**ANA LUIZA TURCHETTI MAIA**

Tese de Doutorado defendida e aprovada no dia 07 de outubro de 2011, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



**PROF. DR. MARIO FIORANI JÚNIOR**  
Instituto Carlos Chagas Filho  
UFRJ



**PROF. DR. JEAN-CHRISTOPHE HOUZEL**  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
UFRJ



**PROF. DR. CHRISTOPHER KUSHMERICK**  
DEPTO DE FISILOGIA E BIOFÍSICA  
ICB/UFMG



**PROF. DR. ANDRE RICARDO MASSENSINI**  
DEPTO DE FISILOGIA E BIOFÍSICA  
ICB/UFMG



**PROF. DR. Jerome Paul Armand L. Baron**  
DEPTO DE FISILOGIA E BIOFÍSICA  
ICB/UFMG, ORIENTADOR

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

Belo Horizonte, 07 de outubro de 2011

O presente trabalho foi realizado no laboratório de Neurodinâmica do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).



A meus pais, os melhores amigos que eu poderia ter.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos que me mostraram o caminho que escolhi trilhar.

Aos que me deram oportunidades.

Aos que me desconstruíram quando necessário.

Aos que me deram a mão durante a reconstrução.

Aos que não me deixaram desistir.

Aos que colaboraram para o dia a dia ser mais colorido.

Aos que mesmo de longe estiveram ao meu lado.

Aos que de alguma forma contribuíram para meu aprendizado.

Ao fim desta etapa tão marcante em minha vida, tenho pleno noção que o que sou e o que sei são mosaicos em que várias pessoas contribuíram com pequenos pedaços. Assim, prefiro não me prender a nomes, pois às vezes, o mais improvável foi aquele que encaixou uma peça de formato incomum onde antes havia um buraco. A todos, minha profunda gratidão.

*Il n'y a pas de recherche appliquée,  
mais seulement des applications de  
la recherche fondamentale.*

Louis Pasteur  
(1822-1895)

# RESUMO

## MODULAÇÃO CENTRO-CONTORNO EM CAMPOS RECEPTIVOS DO WULST VISUAL

Neurônios do córtex visual primário (V1) apresentam uma resposta tipicamente supressiva quando estimulados por estímulos orientados maiores que seu campo receptivo clássico (CRC). Neste trabalho investigamos a prevalência, magnitude e estímulo-dependência da modulação centro-contorno no wulst visual da coruja, uma área que apresenta estreitas similaridades hodológicas e fisiológicas com V1. Ao todo, registramos 167 neurônios utilizando técnicas padrão de registros extracelulares em corujas buraqueiras acordadas, *Athene cunicularia*. Foram consideradas unidades que apresentaram atividade evocada maior que a atividade espontânea, assim como uma resposta significativamente modulada pelo estímulo. Em uma subpopulação de neurônios (n=145), avaliamos as respostas a grades senoidais em movimento de tamanho crescente e centralizadas no meio do CRC utilizando o ajuste com o modelo de diferença da integral de duas Gaussianas, uma modelando mecanismos do centro excitatório e outra modelando o contorno inibitório. Dentre as unidades que apresentaram um bom ajuste (n=114), 88% tiveram sua resposta suprimida na presença da co-estimulação do contorno. A magnitude dessa supressão foi amplamente distribuída (mediana=33%) e correlacionada à razão entre o tamanho do centro (mediana=2.17°, n=114) e do contorno (mediana=7.84°, n=86). Na grande maioria das células, o efeito supressor apareceu logo após o início da resposta, até 30ms após a latência da resposta. A estimulação do contorno sozinho (n=38) induziu respostas semelhantes à atividade espontânea em 74% das unidades, sendo que nas demais unidades este nível de resposta foi alcançado quando o estímulo afastou-se das bordas de CRC. Ao deslocarmos a estimulação do contorno a uma distância de 0.9° de CRC (n=28), observamos a mesma resposta em 78.6% das unidades quando centro e contorno eram colineares, comparados a 57.2% quando ambos encontravam-se ortogonais. A variação do contraste do estímulo (10% e 97%, n=33) mostrou que o tamanho de CRC nestes neurônios não é invariante, sendo moderadamente maior para o contraste baixo em 88% das unidades. Além disso, em 67% dos neurônios, o índice de supressão foi maior para o contraste alto, mostrando uma tendência da supressão ser menos expressiva para tamanhos maiores de campo receptivo. Não encontramos facilitação com o contorno ortogonal ao centro. O tamanho de CRC, assim como o índice de supressão, não foi estatisticamente diferente entre as células simples e complexas. Contudo, em uma subpopulação de neurônios com supressão > 5% (n=66), 80.3% das células avaliadas apresentaram um aumento da intensidade de modulação de resposta pela fase do estímulo em função do tamanho do estímulo. Concluímos que a modulação centro-contorno em neurônios do wulst visual é um fenômeno robusto, provavelmente relacionado à saliência perceptual.

**Palavras-chave:** modulação centro-contorno, campo receptivo clássico, wulst visual da coruja.

# ABSTRACT

## CENTER-SURROUND MODULATION IN VISUAL WULST RECEPTIVE FIELDS

Neurons in the primary visual cortex (V1) typically show response suppression when stimulated by oriented stimuli larger than their classical receptive fields (CRF). Here, we investigate the prevalence, strength and feature selectivity of center-surround modulation in the owl visual wulst, an area that presents close hodological and physiological similarities to V1. In total, we recorded 167 neurons using standard single-unit extracellular recordings in awake burrowing owls, *Athene cunicularia*. Our dataset consisted of units that presented evoked activity larger than baseline and were significantly modulated by stimulus size. In a subset of neurons ( $n=145$ ), we evaluated the response to drifting sinusoidal grating of increasing size centered in the middle of CRF fitted with a difference of two integrated Gaussians, one modeling excitatory center mechanisms and the other one modeling inhibitory surround. Among well-fitted units ( $n=144$ ), 88% of visual wulst neurons were suppressed by co-stimulating center and surround areas. The magnitude of this suppression was widely distributed (median=33%) and correlated to the ratio between center (median=2.17°,  $n=114$ ) and surround sizes (median=7.84°,  $n=86$ ). In most cells, the suppressive effect appeared already at the start of the response, up to 30ms after response latency. When stimulating with a surround patch of grating, 74% out of 38 units showed response levels similar to baseline. The remaining units reached this level only when the inner border of the surround patch was moved away from the CRF border. As we introduced a 0.9° gap between center and surround ( $n=28$ ), absence of response change was observed in 78.6% and 57.2% of units when center and surround gratings were collinear and orthogonal, respectively. Stimulus contrast variation (10% and 97%,  $n=33$ ) showed that CRF size in these neurons is not invariant, as it is slightly larger at low contrast in 88% of units. Besides, in 67% of neurons, suppression index was larger for higher contrast, showing a tendency to be less suppressed for larger receptive field sizes. We did not find facilitatory effects when surround was orthogonal to center. Mean CRF size, as well as suppression index, was statistically not different between simple and complex cells. However, in a subset of neurons with suppression > 5% ( $n=66$ ), 80.3% of the evaluated cells presented an increase in phase-modulation depth of the response as stimulus size was increased. We conclude that center-surround modulation in visual wulst neurons is a robust phenomenon, probably related to perceptual saliency.

**Keywords:** center-surround modulation, classical receptive field, owl visual wulst.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.5.1: Desenho esquemático dos três principais tipos de mecanismos que podem estar associados à modulação centro-contorno.

FIGURA 1.7.1: Gráfico demonstrando a proporção do volume total do cérebro do wulst e do teto óptico em aves com diferentes graus de lateralização dos olhos e foto do cérebro e olhos da coruja buraqueira.

FIGURA 1.7.2: Organização em camadas do wulst visual da coruja, ilustrada por um corte coronal corado pelo método de Gallyas e por um desenho esquemático utilizando diversas colorações.

FIGURA 3.2.1: Foto da câmara de registro.

FIGURA 3.5.1: Representação do modelo teórico baseado na diferença de duas Gaussianas, uma excitatória e outra inibitória, com suas respectivas constantes.

FIGURA 3.5.2: Gráficos demonstrando a simulação da variação das constantes do modelo DoG.

FIGURA 4.2.1: Número de células isoladas por sítio de registro.

FIGURA 4.2.2: Profundidade do eletrodo referente à superfície do wulst.

FIGURA 4.2.3: Distribuição das frequências espacial e temporal utilizadas na estimulação das células que compõem nosso conjunto de dados.

FIGURA 5.1.1: Protocolo G.

FIGURA 5.1.2: Exemplo de curva de seletividade ao tamanho, mostrando o ponto considerado equivalente ao tamanho do campo receptivo clássico (CRC) e a diferença na resposta, indicativa de supressão.

FIGURA 5.1.3: Protocolo GA.

FIGURA 5.2.1: Resposta de diferentes neurônios do wulst visual a grades senoidais de tamanho crescente.

FIGURA 5.2.2: Diferentes perfis de resposta obtidos com o ajuste da curva utilizando o modelo DoG com parâmetros distintos.

FIGURA 5.2.3: Distribuição do coeficiente de determinação  $R^2$  utilizado como índice da qualidade do ajuste do modelo DoG.

FIGURA 5.2.4: Distribuição do tamanho de CRC e do índice de supressão de acordo com a classificação do perfil de resposta.

FIGURA 5.2.5: Correlação entre a atividade em CRC e seu tamanho para as três classes de curva de ajuste.

FIGURA 5.2.6: Comparação entre os tamanhos de CRC ajustado e CRC bruto.

FIGURA 5.2.7: Comparação entre os índices de supressão (IS) obtidos em dados ajustados e brutos.

FIGURA 5.2.8: Avaliação dos tamanhos de CRC, CREC e sua relação para as células do grupo "supressão".

FIGURA 5.2.9: Associação do índice de supressão com a extensão de CRC, CREC e a razão CREC/CRC, calculados a partir do modelo de ajuste para células do grupo "supressão".

FIGURA 5.2.10: Relação entre o índice de supressão e a atividade espontânea dividida por classes de perfil de resposta ao tamanho.

FIGURA 5.2.11: Exemplos de curvas de resposta ao aumento do diâmetro interno da grade senoidal anular, com suas curvas complementares de somação espacial.

FIGURA 5.2.12: Histogramas representando diferenças entre diferentes parâmetros do protocolo GA.

FIGURA 5.2.13: Gráficos mostrando a relação entre a atividade relativa à área coberta de CRC e a área coberta de CRC, a partir de respostas aos protocolos G e GA.

FIGURA 5.2.14: Gráfico mostrando a relação entre duas curvas de somação espacial registradas em diferentes momentos para uma mesma célula.

FIGURA 5.3.1: Exemplo de curvas em resposta ao protocolo GA mostrando a presença da zona incerta e a importância funcional do anel de transição.

FIGURA 6.2.1: Latência da resposta em função do tamanho do estímulo, demonstrada para valores absolutos e valores normalizados.

FIGURA 6.2.2: Latência da resposta em função do tamanho do estímulo, demonstrada para valores normalizados agrupados em 5 grupos de índice de supressão (IS).

FIGURA 6.2.3: Latência da resposta em função da resposta, agrupadas em 5 grupos de índice de supressão (IS).

FIGURA 6.2.4: Exemplos de unidades ajustadas com o modelo DoG em diferentes intervalos de resposta integrada.

FIGURA 6.2.5: Variação do índice de supressão ao longo do tempo integrado de resposta subdividido em grupos com níveis diferentes de supressão.

FIGURA 7.1.1: Protocolo Gcont.

FIGURA 7.1.2: Exemplos de diferentes tipos de resposta ao contraste observadas em neurônios do wulst visual.

FIGURA 7.2.1: Exemplos de curvas de resposta ao aumento do tamanho do estímulo com 97% de contraste e com 10% de contraste.

FIGURA 7.2.2: Curva de resposta de uma mesma unidade estimulada com o protocolo Gcont ajustada com e sem restrição da atividade espontânea em mais e menos seu EPM.

FIGURA 7.2.3: Distribuição do coeficiente de determinação  $R^2$  para os contrastes 97% e 10%.

FIGURA 7.2.4: Distribuição do tamanho de CRC em alto e baixo contrastes de acordo com a classificação do perfil de resposta.

FIGURA 7.2.5: Correlação entre o tamanho de CRC em alto e baixo contrastes.

FIGURA 7.2.6: Correlação entre a constante espacial excitatória  $a$  em alto e baixo contrastes. Correlação entre a razão da constante espacial excitatória  $a$  em baixo e alto contrastes com a razão do tamanho de CRC em baixo e alto contrastes.

FIGURA 7.2.7: Distribuição do índice de supressão para alto e baixo contrastes de acordo com a classificação do perfil de resposta.

FIGURA 7.2.8: Correlação entre o índice de supressão em resposta a estímulo de alto e baixo contrastes.

FIGURA 8.1.1: Protocolo CSG e CSG complemento.

FIGURA 8.2.1: Características da seletividade à direção de áreas específicas do campo receptivo.

FIGURA 8.2.2: Gráficos populacionais da atividade média das curvas de seletividade à direção do contorno normalizada utilizando a resposta à CRC como máximo e a atividade espontânea como mínimo.

FIGURA 8.2.3: Diagrama da prevalência populacional de atributos relacionados à direção do contorno.

FIGURA 8.2.4: Exemplo de curvas de respostas à variação da direção do contorno, aos estímulos CSG-complemento e ao protocolo GA para uma mesma unidade.

FIGURA 8.2.5: Prevalência populacional do efeito da lacuna isoluminante sobre o contorno colinear e ortogonal.

FIGURA 8.2.6: Comparação entre a atividade de CRC sem e com o contorno na presença e ausência da lacuna em direções colinear e ortogonal.



FIGURA 8.3.1: Distribuição dos valores de largura de banda (LB) para o contraste máximo.

FIGURA 9.2.1: Histograma representando a distribuição populacional de  $F1/F0$  na condição referente à CRC para as células do grupo "supressão".

FIGURA 9.2.2: Relação entre a razão de  $F1$  e  $F0$  em CRC e o tamanho de CRC e o índice de supressão.

FIGURA 9.2.3: Histogramas peri-estímulos de uma célula simples, uma complexa e uma complexa que simplifica em resposta à estimulação de CRC e de CRC em conjunto com CREC.

FIGURA 9.2.4: Gráficos da variação de  $F1$  e  $F0$  em resposta aos diferentes tamanhos de estímulo de unidades que apresentaram um comportamento único desta variação.

FIGURA 9.2.5: Relação de  $F1/F0$  para dois pontos da curva de resposta ao tamanho: quando sua atividade é máximo (CRC) e quando é mínima (mínimo de G).

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 4.2.1: Apresentação da população neuronal registrada.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- CRC - campo receptivo clássico
- CREC - campo receptivo extra clássico
- CRM - campo responsivo mínimo
- DC - componente constante da transformada de Fourier
- EPM - erro padrão da média
- F0 - componente constante da transformada de Fourier (o mesmo que DC)
- F1 - primeira harmônica da transformada de Fourier
- HA - hiperpalio apical
- HI - hiperpalio intercalado
- HD - hiperpalio densocelular
- IHAex - núcleo intersticial externo de HA
- IHAin - núcleo intersticial interno de HA
- IPS - impulsos por segundo
- ID - índice de direcionalidade
- IS - índice de supressão
- LB - largura de banda
- NGL - núcleo geniculado lateral
- NIP - núcleo istmo parvocelular
- NOP - núcleo óptico principal
- TO - teto óptico
- n.s. - não significativo
- V1 - córtex visual primário

## LISTA DE SÍMBOLOS

$a$  - constante espacial excitatória

$b$  - constante espacial excitatória

$c$  -  $b-a$

$ID$  - índice de direcionalidade

$IS$  - índice de supressão

$ISO$  - índice de seletividade à orientação

$K_e$  - ganho excitatório

$K_i$  - ganho inibitório

$R$  - resposta

$R_0$  - atividade espontânea

$R^2$  - coeficiente de determinação

$R_{anti}$  - resposta à direção anti-preferida

$R_{espont}$  - atividade espontânea

$R_{pref}$  - resposta à direção preferida

$SS_{ajuste}$  - soma dos quadrados dos resíduos extraídos do ajuste

$SS_{total}$  - soma dos quadrados entre a diferença entre cada valor da regressão e a média desses valores

$\rho$  - coeficiente de correlação de Spearman

$r$  - coeficiente de correlação de Pearson

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
1.1. O conceito clássico de campo receptivo .....	1
1.2. O campo receptivo ao longo da via visual .....	1
1.3. A modulação centro-contorno .....	3
1.4. Influência da modulação centro-contorno na percepção visual .....	4
1.5. Mecanismos subjacentes à modulação contextual .....	5
1.6. Abordagem comparativa: de mecanismos à evolução do sistema visual .....	6
1.7. A coruja como modelo no estudo da visão .....	7
2. OBJETIVOS	
2.1. Objetivo Geral .....	11
2.2. Objetivos Específicos .....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. Animais .....	12
3.2. Preparo dos animais para registros acordados .....	12
3.3. Registros eletrofisiológicos e classificação dos potenciais de ação .....	14
3.4. Caracterização dos campos receptivos e protocolos experimentais .....	15
3.5. Análise geral de dados .....	16
3.6. Análise estatística .....	20
4. CAPÍTULO 1: Considerações metodológicas	
4.1. Apresentação .....	21
4.2. Resultados .....	21
4.3. Discussão .....	27
5. CAPÍTULO 2: Supressão causada pelo contorno	
5.1. Apresentação .....	30
5.2. Resultados .....	31
5.3. Discussão .....	48
6. CAPÍTULO 3: Evolução temporal da modulação contextual	
6.1. Apresentação .....	53
6.2. Resultados .....	53
6.3. Discussão .....	59
7. CAPÍTULO 4: Invariância do campo receptivo clássico	
7.1. Apresentação .....	62
7.2. Resultados .....	63

7.3. Discussão .....	71
8. CAPÍTULO 5: Seletividade à direção do contorno	
8.1. Apresentação .....	73
8.2. Resultados .....	74
8.3. Discussão .....	81
9. CAPÍTULO 6: Modulação centro-contorno em células simples e complexas	
9.1. Apresentação .....	85
9.2. Resultados .....	86
9.3. Discussão .....	92
10. DISCUSSÃO GERAL .....	94
11. CONCLUSÃO .....	99
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	100

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. O conceito clássico de campo receptivo

O termo campo receptivo foi cunhado por Sherrington em 1906 para descrever uma região da pele onde uma estimulação poderia induzir um reflexo (Sherrington, 1906). Alguns anos mais tarde, Hartline, registrando descargas de impulsos de uma só fibra do nervo óptico do artrópode *Limulus*, descreveu o campo receptivo visual pela primeira vez como sendo uma região restrita da retina que quando iluminada induzia uma resposta (Hartline, 1938). A partir desta definição, o termo campo receptivo foi estendido a outros neurônios da via visual, assim como a neurônios de outros sistemas sensoriais que não somente o visual (Alonso e Chen, 2009).

### 1.2. O campo receptivo ao longo da via visual

Em mamíferos, o tamanho do campo receptivo aumenta em sucessivos estágios de processamento na via visual. Em cada um destes estágios, seu tamanho aumenta também em função da excentricidade, ou seja, a distância do ponto de fixação (Andriessen e Bouma, 1976; Alonso e Chen, 2009). Na retina, por exemplo, há dois fatores cruciais que explicam este efeito: a densidade associada à distribuição de fotorreceptores e a somação espacial. A presença de cones diminui consideravelmente ao se afastar da fóvea, enquanto os bastonetes são mais abundantes na região parafoveal. Além disso, enquanto na fóvea um fotorreceptor se liga a uma única célula bipolar, que por sua vez se projeta a uma única célula ganglionar, na periferia há uma convergência de vários fotorreceptores projetando ainda a uma única célula ganglionar (Palmer, 1999). Assim, os menores campos receptivos de células ganglionares são projeções na região da fóvea (Andriessen e Bouma, 1976; Alonso e Chen, 2009). Este padrão de convergência é observado em outros estágios da via visual, resultando em campos receptivos maiores no córtex visual mesmo se tratando da representação espacial de um mesmo ponto.

A complexidade dos campos receptivos, assim como seu tamanho, também aumenta nos diferentes estágios do processamento visual. Os campos receptivos da retina apresentam uma organização aproximadamente circular e concêntrica. A estimulação luminosa no centro e no contorno induzem respostas antagônicas, levando à classificação de dois tipos celulares: centro-

ON, quando a estimulação luminosa no centro, mas não no contorno, levam a célula a disparar; centro-OFF, quando a estimulação luminosa no contorno, mas não no centro, ativa a célula (Kuffler, 1953). Os campos receptivos do núcleo geniculado lateral (NGL), o estágio seguinte de processamento visual na via talamocortical, são semelhantes aos da retina, apresentando sub-regiões centro-contorno ON e OFF (Hubel, 1960).

O extenso trabalho de Hubel e Wiesel caracterizou pela primeira vez os campos receptivos no córtex visual primário (V1, Hubel e Wiesel, 1959). Estes trabalhos revelaram uma grande diversidade de células e suas interconexões, assim como uma considerável variedade de campos receptivos, os quais eles classificaram em dois grandes grupos: simples e complexos (Hubel e Wiesel, 1962). Os campos receptivos simples também apresentam sub-regiões ON e OFF distintas, mas ao contrário da retina e NGL, sua organização espacial é alongada e paralela. Para que uma célula fosse classificada como simples, seu campo receptivo deveria preencher quatro critérios:

- i) ser subdividido em regiões distintas de excitação e inibição;
- ii) apresentar somação nas partes excitatória e inibitória separadamente;
- iii) apresentar antagonismo entre as sub-regiões excitatórias e inibitórias;
- iv) ser possível prever respostas a pontos de diversos tamanhos, estacionários ou em movimento, de um mapa de áreas excitatórias e inibitórias.

A classificação de campos receptivos complexos, do qual faz parte uma população celular bem mais diversa, era feita de maneira simples: por exclusão (Hubel e Wiesel, 1962; Martinez e Alonso, 2003a). Além das duas classes descritas, Hubel e Wiesel observaram um terceiro tipo de campo receptivo, o qual apresentava uma supressão, ou até inibição, da resposta se estimulado por uma linha ou barra que se estendesse além de seus limites (Hubel e Wiesel, 1968), classificado por eles como células hipercomplexas. Este comportamento celular foi observado várias vezes por diversos autores, e a ele foram atribuídos outros nomes, como *end-stopped*, ou seja, com inibição (*stopped*) além de suas bordas (*ends*). Hoje sabemos que todas estas observações se referem a um fenômeno, o da modulação centro-contorno.



### 1.3. A modulação centro-contorno

A modulação centro-contorno, em tese, baseia-se no princípio que um estímulo, posicionado fora do campo receptivo, sozinho não induz resposta, mas se apresentado em conjunto com um estímulo dentro do campo pode modular sua atividade (para revisões ver Allman *et al.*, 1985; Fitzpatrick, 2000; Angelucci e Bullier, 2003; Seriès *et al.*, 2003). Devido à presença de modulação proveniente de áreas do espaço que não fazem parte do campo receptivo, assim como era conhecido, surgiu a necessidade de uma diferenciação de seu termo, que passou a ser conhecido como campo receptivo clássico (CRC). À região que circunda esta área foi atribuído o nome de campo receptivo extra-clássico (CREC).

A organização centro-contorno foi originalmente descrita por Kufner (1953) para explicar a disposição concêntrica e antagônica dos campos receptivos da retina. Porém, há uma grande diferença entre o fenômeno observado por ele e o explorado em áreas corticais. Na retina, tanto o centro quanto o contorno fazem parte do campo receptivo clássico, enquanto em V1, onde a organização dos campos não é concêntrica, o contorno não faz parte dos limites de CRC. Entretanto, a modulação centro-contorno tem sido observada tanto na retina (Shou *et al.*, 2000; Nolt *et al.*, 2004; Solomon *et al.*, 2006; Alitto e Usrey, 2008) quanto no NGL (Webb *et al.*, 2005; Sceniak *et al.*, 2006; Alitto e Usrey, 2008). A presença deste fenômeno nos primeiros estágios do processamento visual não corrobora a hipótese de Hubel e Wiesel sobre as células hipercomplexas fazerem parte de um sistema hierárquico, no qual células do NGL com campo concêntrico convergiam a células simples corticais, que por sua vez convergiam a células complexas e então a hipercomplexas (Hubel e Wiesel, 1968). Hoje sabemos que, em V1, o fenômeno está presente tanto em células simples quanto complexas (Maffei e Fiorentini, 1976), além de estar também em outras áreas do córtex visual (Hupé *et al.*, 1998).

Há vários tipos de modulação já descritas. Em V1, por exemplo, a supressão gerada pelo contorno é o efeito mais observado, ocorrendo quando CRC e CREC são estimulados na mesma direção preferida (Knierim e Van Essen, 1992; DeAngelis *et al.*, 1994; Sceniak *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a). Contudo, efeitos facilitatórios têm sido registrados quando CREC é orientado de forma ortogonal a CRC (Sillito *et al.*, 1995; Levitt e Lund, 1997; Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a). A intensidade

destas modulações não está ligada somente à orientação do contorno. Fatores, como contraste (Sceniak *et al.*, 1999; Song e Li, 2008), frequências espacial e temporal e estimulação de regiões específicas de CREC (DeAngelis *et al.*, 1994; Petrov e McKee, 2006), dentre outros, alteram o balanço excitação/inibição, evidenciando a complexidade deste fenômeno contextual.

#### **1.4. Influência da modulação centro-contorno na percepção visual**

Contexto pode ser definido, de maneira geral, como situação, experiência ou ambiente relevante a um evento particular que revele seu significado. A extração do significado pode ser identificada como percepção, e o contexto é o meio sensorio/comportamental/cognitivo que influencia a maneira que cada característica sensorial é percebida (Albright e Stoner, 2002). Fenômenos contextuais, como são conhecidas as variações de modulações centro-contorno, apresentam uma função perceptual ainda discutida. A eles tem sido atribuída uma participação ativa no processamento global da imagem. Alguns eventos perceptuais, como a ilusão de complemento e preenchimento (Albright e Stoner, 2002), além do complemento perceptual do ponto cego (Ramachandran e Gregory, 1991; Fiorani Júnior *et al.*, 1992), aparentam estar intimamente relacionados ao contexto.

Estudos têm demonstrado, por exemplo, que células tendem a responder mais quando há contraste entre centro e contorno, uma resposta correlacionada com a saliência perceptual de elementos no centro. O significado funcional deste efeito é aparente quando consideramos que esta área de contraste no mundo visual tende a ocorrer ao longo de bordas, entre objetos e superfícies (Knierim e Van Essen, 1992). Além disso, investigações variando diversas combinações de atributos da imagem, como cor, orientação, binocularidade e padrões de simetria, dentre outros, contribuem com a hipótese que neurônios em V1 participam da interpretação perceptual da cena visual, como a segregação figura-fundo (Lamme, 1995; Zipser *et al.*, 1996). Ainda, a participação de V1 na otimização da transmissão do sinal se evidencia quando a estimulação do contorno em conjunto com o centro aumenta a dispersão dos potenciais de ação (*sparse code*) de seus neurônios, com minimização da redundância e redução do custo metabólico (Vinje e Gallant, 2000 e 2002).

## 1.5. Mecanismos subjacentes à modulação contextual

A natureza estímulo-específico do paradigma centro-contorno faz dele atrativo para a compreensão dos ainda desconhecidos circuitos relacionados à maneira com que neurônios codificam objetos do mundo exterior. Embora ainda não haja consenso sobre os mecanismos responsáveis pelos efeitos contextuais (Ozeki *et al.*, 2004), a hipótese mais considerada inicialmente foi a de que eles resultem do envolvimento da conectividade horizontal intrínseca de uma determinada área cortical (Gilbert *et al.*, 2000). No córtex visual primário, estas conexões podem alcançar três a quatro vezes a extensão de CRC (Gilbert e Wiesel, 1989), e encontram-se nas camadas 2/3, paralelas à superfície cortical, ligando neurônios que compartilham a mesma preferência de orientação. O modelo recorrente de interações centro-contorno assume que a estimulação do contorno próximo de CRC modula a resposta ao estímulo do centro via axônios horizontais que se conectam tanto a neurônios excitatórios quanto inibitórios (Somers *et al.*, 1998). Foi também demonstrado que conexões locais dentro da mesma coluna podem apresentar especializações para o processamento de padrões visuais complexos (Das e Gilbert, 1999). Entretanto, conexões laterais de longo alcance são muito lentas para serem as principais responsáveis pelas influências de um contorno distante (Girard *et al.*, 2001). Hoje, vários trabalhos vêm demonstrando o papel das projeções descendentes de áreas superiores (*feedback*) mediando a supressão causada pelo contorno. Utilizando inativação reversível da área medial temporal (V5, Hupé *et al.*, 1998) e de V2/V3 (Nassi e Callaway, 2009), foi demonstrada a contribuição dessas regiões para o fenômeno contextual em V1. Tem sido proposto que estas conexões recíprocas de larga escala são cruciais para a compreensão da integração perceptual (Varela *et al.*, 2001).

Além destes dois tipos de conexão, a participação das conexões ascendentes (*feedforward*) na modulação contextual gera indagações sobre o poder de processamento dos estágios iniciais da via visual. Os primeiros relatos de supressão causada por estímulos maiores que o campo receptivo clássico em neurônios do NGL datam dos trabalhos de Hubel e Wiesel (Hubel e Wiesel, 1961), embora eles não tenham associado este efeito às células hipercomplexas. A amplitude da supressão gerada pelo contorno na retina não é significativamente diferente da observada no NGL (Alitto e Usrey, 2008). Já os padrões espaciais da supressão gerada pelo contorno no NGL e em V1 são

bem diferentes, sugerindo que esta supressão em V1 não pode ter sido simplesmente herdada do NGL (Webb *et al.*, 2005). Estes dados evidenciam que um só mecanismo é insuficiente para explicar as variadas propriedades da supressão causada pelo contorno (Smith, 2006). Ainda são necessárias muitas pesquisas para elucidar a participação dos diferentes tipos de conexão no processamento da informação da modulação centro-contorno.

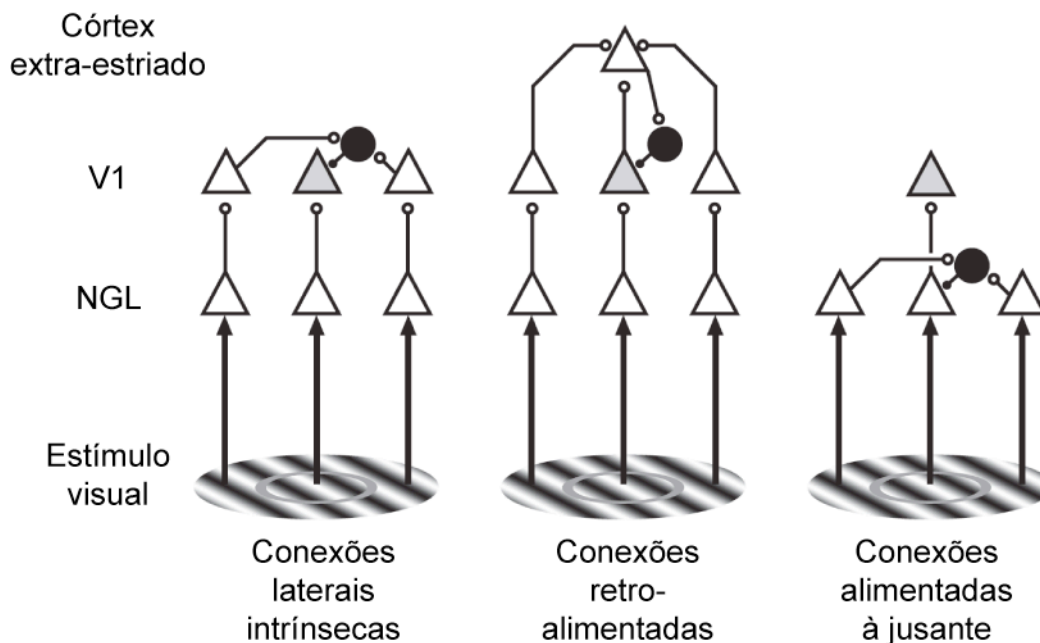


FIGURA 1.5.1: Desenho esquemático dos três principais tipos de mecanismos que podem estar associados à modulação centro-contorno. Os triângulos brancos representam neurônios excitatórios e os círculos pretos interneurônios inibitórios. Os triângulos cinzas simbolizam os neurônios registrados, estimulados por grades senoidais no CRC (área central do estímulo) e suprimidos pelas mesmas em CREC (contornando a área central do estímulo). O anel em cinza marca a separação entre centro e contorno do campo receptivo clássico. O desenho generaliza a participação das conexões alimentadas à jusante como um efeito gerado no NGL, embora possam igualmente vir da retina. Adaptado de Smith, 2006.

## 1.6. Abordagem comparativa: de mecanismos à evolução do sistema visual

Estudos comparativos vêm acrescentando informações detalhadas ao que já se conhecia sobre o córtex visual primário em mamíferos. As conexões entre as camadas corticais e outras áreas e sub-áreas do córtex, além dos vários tipos celulares, são altamente preservadas em diferentes espécies deste grupo. Porém, a abundância de cada tipo celular, sua posição em cada camada cortical e o refinamento das conexões neuronais variam consideravelmente (Van Hooser, 2007). Por exemplo, é conhecido que nem todos os mamíferos apresentam colunas de orientação (Ohki *et al.*, 2005). Entretanto, um recente estudo comparativo foi capaz de descrever um princípio

básico de organização de colunas de orientação baseado em um modelo de auto-organização de redes corticais (Kaschube *et al.*, 2010), mostrando a conservação da densidade e distribuição de *pinwheels*. A diversidade encontrada na arquitetura do córtex sugere que talvez o estudo de um único circuito cortical em uma única espécie seja improvável para desvendar uma ampla gama de possíveis relações entrada/saída ou estrutura/função (Van Hooser, 2007).

Análises comparativas entre animais de diversas taxa vêm revelando que convergência evolutiva é um fenômeno mais expressivo do que se imaginava no mundo biológico (Nishikawa, 2002). A presença de convergência na organização funcional do sistema nervoso pode esclarecer designs básicos de circuitos neurais em espécies que possuem história evolutiva única, mas usam algoritmos semelhantes para resolver problemas computacionais básicos. Aves e primatas são os vertebrados que possuem o sistema visual mais avançado. Visto que as aves se separaram filogeneticamente dos mamíferos há cerca de 300 milhões de anos, possíveis analogias encontradas entre seus sistemas visuais são provavelmente fruto de processos evolutivos convergentes (Shimizu e Bowers, 1999). Isso faz com que estudos comparativos entre aves e mamíferos, como primatas, sejam muito interessantes para a compreensão de algoritmos evolutivos aplicados à visão. Além disso, compreender os mecanismos neurais responsáveis por adaptações a diferentes nichos ecológicos pode nos fornecer excelentes oportunidades de encontrar princípios que serão generalizados a todos os sistemas visuais, inclusive o nosso próprio (Marder, 2002).

### **1.7. A coruja como modelo no estudo da visão**

A visão é a modalidade sensorial predominante na maioria das aves (Brooke *et al.*, 1999). Devido ao fato destes animais serem tão dependentes deste sentido, deve haver uma forte pressão seletiva para o grande tamanho de seus olhos (Burton, 2008). De fato, o globo ocular em aves apresenta um tamanho relativo muito grande se comparado ao tamanho de seu crânio (Jones *et al.*, 2007). Tal desenvolvimento anatômico do sistema visual se reflete em seu comportamento, visto que há evidências comportamentais sobre a excelente acuidade visual em aves, com habilidades comparáveis e até superiores às de humanos (Emery, 2006).

As corujas, comparadas às demais aves, apresentam olhos ainda maiores do que o esperado para seu tamanho corporal, o que deve estar associado a sua capacidade visual em ambientes escotópicos e mesópicos e ao hábito predatório (Brooke *et al.*, 1999). Seus olhos são frontais, um importante atributo que confere visão binocular (Pettigrew e Konishi, 1976a) e permite a comparação com outros animais, como os primatas. Além disso, uma vantagem do uso da coruja como animal experimental no campo da neurociência da visão reside no fato de não haver necessidade do monitoramento de sua movimentação ocular, essencial em estudos com mamíferos, visto que esta é minimamente presente nestas aves (Steinbach *et al.*, 1974; Knudsen, 1982), alcançando uma amplitude máxima de 0.5° em *Athene cunicularia* (Pettigrew e Konishi, 1976a; Cooper e Pettigrew, 1979).

A coruja buraqueira, ao contrário de várias outras corujas, é um animal diurno cujo período mais intensivo de forrageio é crepuscular (Martin, 1973). Uma outra peculiaridade acerca da coruja buraqueira é a presença de uma fóvea bem definida (Castello-Branco *et al.*, 2009), ausente em *Tyto alba* (Pettigrew, 1979), ou suindara, modelo amplamente explorado devido a suas exímias habilidades auditivas (Konishi, 2000).

Na coruja, como em todas as aves, é bem conhecida a presença de duas vias visuais paralelas, a talamofugal e a tectofugal. A via tectofugal tem sido amplamente explorada, por ser a mais desenvolvida na maior parte das aves (Iwaniuk e Hurd, 2005; Iwaniuk *et al.*, 2008). Ela parte da retina, passando pelo teto óptico seguido do núcleo rotundo, até o ectoestriado (Shimizu e Bowers, 1999). Assim como em mamíferos, é conhecido que na via talamofugal, os sinais passam pelo núcleo óptico principal (NOP, também chamado de núcleo geniculado lateral por alguns autores) chegando até o wulst (Shimizu e Bowers, 1999). Uma das principais diferenças, se compararmos as vias visuais destes dois grupos, é que em aves há uma decussação total no quiasma óptico. Porém, as fibras recruzam no quiasma supraóptico, possibilitando visão binocular a estes animais (Pettigrew e Konishi, 1976a).

O wulst visual, área telencefálica que recebe projeções da via talamofugal, é considerado funcionalmente análogo a V1 (Pettigrew e Konishi, 1976a; Pettigrew e Konishi, 1976b; Pettigrew, 1979; Shimizu e Bowers, 1999; Medina e Reiner, 2000; Nieder e Wagner, 2000; Nieder e Wagner, 2001; Baron

*et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009). O wulst em aves cujos olhos são orientados para frente, como as corujas, ocupam um espaço mais de duas vezes maior na porcentagem total do cérebro, se comparado às aves com olhos laterais, enquanto a relação oposta é observada para o tamanho do teto óptico (figura 1.7.1, Iwaniuk e Hurd, 2005; Iwaniuk *et al.*, 2008). Assim como o córtex estriado, o wulst visual possui uma organização trilaminar (figura 1.7.2). A camada mais superficial é a supragranular, chamada de hiperpalio apical (HA), ocupando cerca de 40% da espessura total do wulst (aproximadamente 1200µm); em V1 esta é composta pelas camadas 2 e 3, cujos aferentes projetam para regiões intratelencefálicas (Karten *et al.*, 1973; Shimizu e Bowers, 1999). No wulst, HA também projeta para as regiões intratelencefálicas, assim como para as extratelencefálicas, embora ainda não seja conhecido se a mesma célula pode apresentar ambas as projeções (Shimizu *et al.*, 1995). Abaixo de HA estão as camadas granulares conhecidas como núcleo intersticial externo de HA (IHAex, mas dorsal) e núcleo intersticial interno de HA (IHAIN, Karten *et al.*, 1973). Estas camadas são especialmente desenvolvidas em corujas, recebendo projeções talâmicas diretas do NOP, assim como a camada 4 de V1, e projetando massivamente para HA (Karten *et al.*, 1973; Pettigrew e Konishi, 1976b; Shimizu *et al.*, 1995; Shimizu e Bowers, 1999). Foi observada que a maior parte das unidades de IHAex são ipsilaterais, enquanto IHAIN são contralaterais (Pettigrew e Konishi, 1976b). As camadas mais profundas do wulst são chamadas de hiperpalio intercalado (HI) e hiperpalio densocelular (HD, Karten *et al.*, 1973; Shimizu e Bowers, 1999). Ambas projetam para o hipocampo e seu entorno; em V1, as camadas 5 e 6 enviam projeções retro-alimentadas para estruturas visuais subcorticais (Shimizu e Bowers, 1999).

Além de muito desenvolvido, o wulst visual da coruja contém neurônios com pequenos campos receptivos organizados retinotopicamente, seletividade para disparidade binocular, orientação do estímulo e direção de movimento, além de uma organização colunar para orientação e dominância ocular (Pettigrew e Konishi, 1976a; Pettigrew, 1979; Wagner e Frost, 1993; Liu e Pettigrew, 2003). Esses neurônios, assim como os encontrados em V1, têm campos receptivos que podem ser classificados como simples, complexos e hipercomplexos (Pettigrew, 1979). Registros unitários mostraram a codificação de contornos ilusórios, sugerindo que ele pode ser adaptado para tarefas que

requerem integração neuronal de longo alcance e fenômenos perceptuais complexos (Nieder e Wagner, 1999). Em aves, há evidências da ocorrência de modulação pelo contorno no teto óptico de pombos (Sun *et al.*, 2002) e das suindaras (Mysore *et al.*, 2010), embora ainda não tenha sido caracterizada a ocorrência deste fenômeno no wulst visual de corujas.

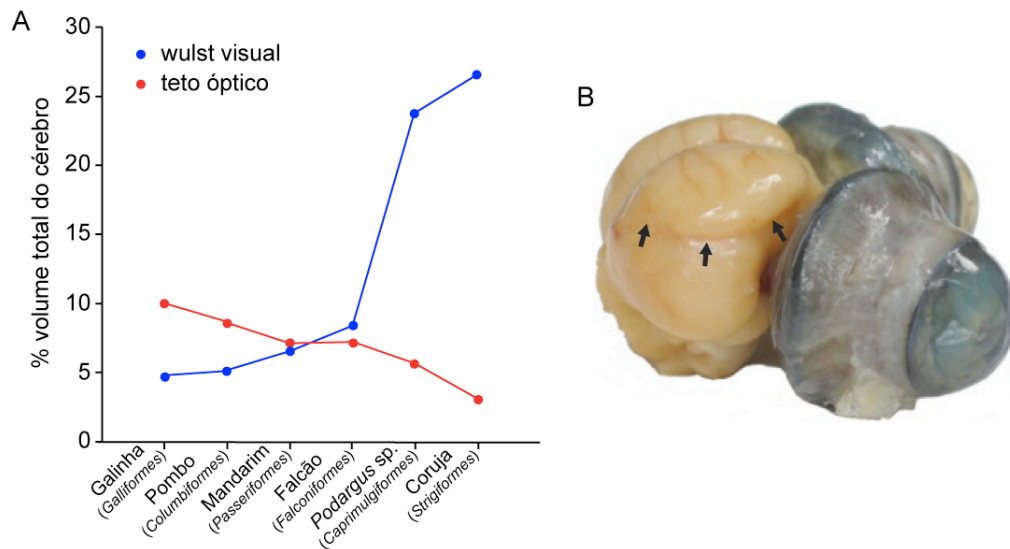


FIGURA 1.7.1: Em A, gráfico demonstrando a proporção do volume total do cérebro do wulst (azul) e do teto óptico (vermelho) em aves com diferentes graus de lateralização dos olhos (adaptado de Iwaniuk e Hurd, 2005). Em B, foto do cérebro e olhos da coruja buraqueira, onde as setas indicam a borda lateral do wulst (fotografia de Jerome Baron).

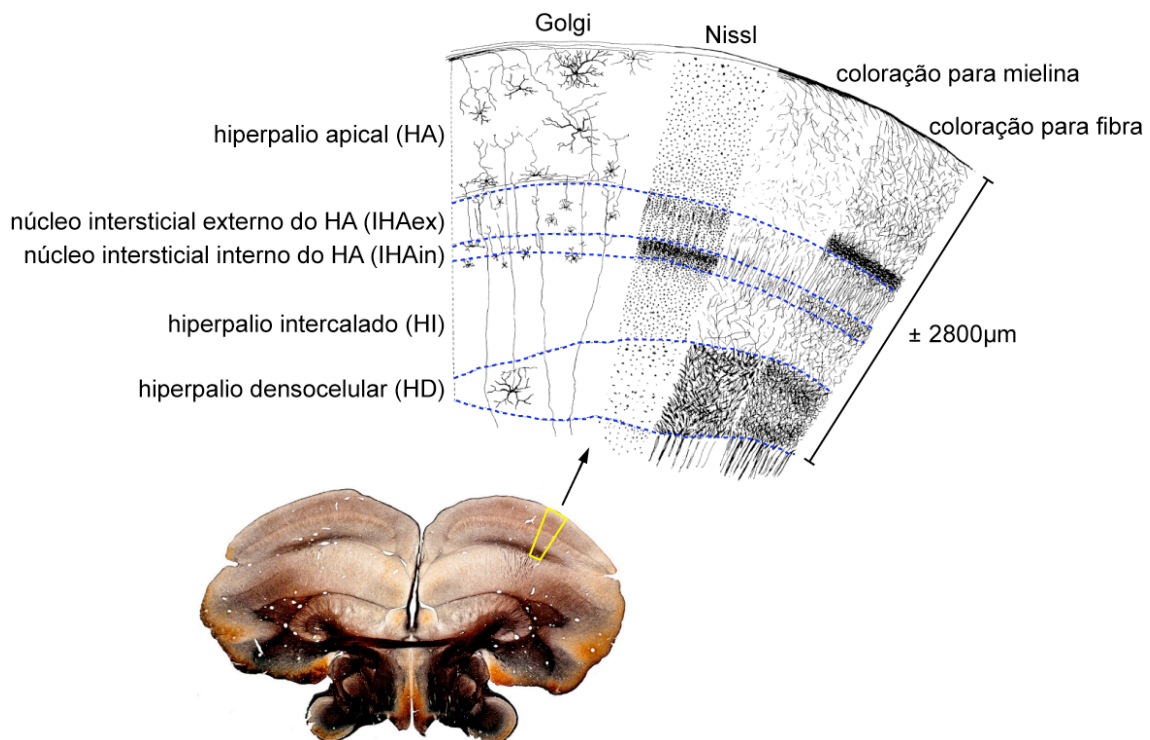


FIGURA 1.7.2: Organização em camadas do wulst visual da coruja, ilustrada por um corte coronal corado pelo método de Gallyas (histologia de Jerome Baron) e por um desenho esquemático utilizando diversas colorações (adaptado de Pettigrew, 1979).



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar e caracterizar a modulação centro-contorno em campos receptivos do wulst visual da coruja.

### **2.2. Objetivos Específicos**

1. Avaliar a modulação gerada pelo contorno de campos receptivos clássicos em neurônios do wulst visual da coruja, caracterizando a natureza desta modulação.

2. Analisar a evolução temporal da resposta à modulação centro-contorno.

3. Identificar se o tamanho do campo receptivo clássico é ou não invariante.

4. Descrever as alterações na modulação gerada pelo contorno em direções distintas relativas ao centro.

5. Estimar o efeito da modulação centro-contorno para classes de células distintas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Animais

Os animais utilizados neste estudo foram corujas buraqueiras (*Athene cunicularia*) obtidas por doação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Estes animais foram mantidos em um aviário ao ar livre com uma dieta semelhante à natural, baseada em roedores. Devido a origem incerta dos animais, não estimamos precisamente sua idade, assim como seu sexo, pois não há dimorfismo sexual externo evidente. Todos os procedimentos aqui descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética para a Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais sob a licença 005/04.

#### 3.2. Preparo dos animais para registros acordados

Os registros foram feitos em corujas acordadas com restrição de movimentos, segundo uma técnica desenvolvida em nosso laboratório e descrita por Baron e colaboradores (2007). Inicialmente o animal foi submetido a um período de adaptação aos ambiente e câmara de registros, utilizando reforço positivo. Uma vez constatada sua habituação, o animal foi submetido a um procedimento cirúrgico de implantação de um cilindro metálico utilizado tanto como peça para a imobilização da cabeça como via de acesso ao cérebro. Este cilindro, confeccionado a partir de aço cirúrgico e pesando em média 1.85 gramas, permitia ao animal manter sua atividade habitual junto às outras corujas no aviário.

O procedimento cirúrgico foi realizado sob anestesia utilizando uma dose de 20 mg/kg de Zoletil<sup>®</sup> 50 (mistura de 1:1 de tiletamina e zolazepam, Virbac, Carros, França) intra-muscular e em condições assépticas. Inicialmente a cabeça do animal foi presa a um aparelho estereotáxico adaptado, em nosso laboratório, para corujas buraqueiras. Após a exposição do crânio, sobre a área foveal/parafoveal do wulst (mapa visuotópico descrito em Pettigrew, 1979) foi fixado, utilizando um cimento de ionômero de vidro odontológico (Vitro Fil, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) o cilindro metálico. No centro deste cilindro fizemos uma craniotomia de aproximadamente 3 mm de diâmetro, permitindo a penetração dos eletrodos. Para prevenir o desenvolvimento de fibrose na *dura mater*, foi utilizada topicamente dexametasona associada a antibióticos

(dexametasona 1mg/mL, neomicina 5mg/mL e polimixina B 6000UI/mL, Nepodex<sup>®</sup> colírio, Latinofarma, Cotia, SP, Brasil) após cada manipulação da craniotomia. Visando a proteção tanto mecânica como contra infecções, o cilindro era fechado com uma tampa de acrílico durante todo o tempo, exceto durante os registros e procedimentos de limpeza da craniotomia. Após a cirurgia, foram administrados por via intra-muscular um antibiótico de amplo espectro (50 mg/kg de Terramicina<sup>®</sup>, Pfizer, São Paulo, SP, Brasil) e um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen<sup>®</sup> 1%, Merial, São Paulo, SP, Brasil). Os animais se recuperaram por um período de quatro dias antes do início dos registros.

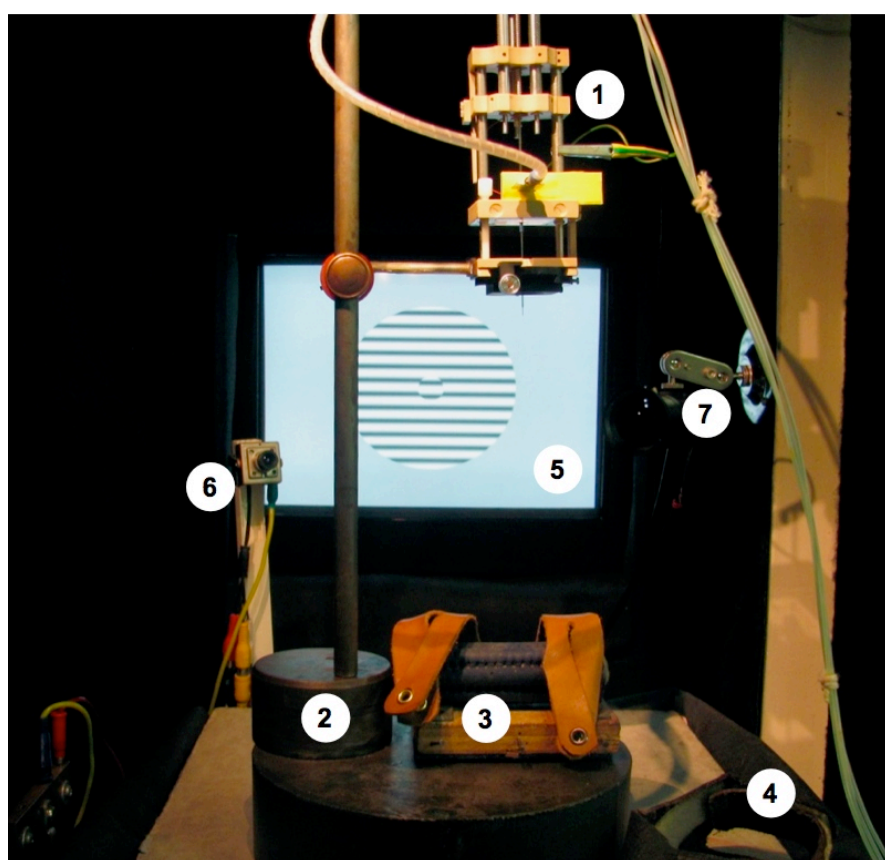


FIGURA 3.2.1: Foto da câmara de registro. (1) dispositivo de eletrodos, (2) suporte de estabilização, (3) poleiro acolchoado, (4) veste de couro, (5) monitor de estimulação, (6) câmera de monitoramento do animal, (7) câmera do pupilômetro (fotografia de Jerome Baron).

No dia do registro, os animais portavam uma pequena veste de couro, visando a restrição do bater de asas, e tinham suas garras presas a um poleiro acolchoado. O cilindro metálico era afixado ao suporte dos eletrodos, composto por uma mesa de coordenadas X e Y mantida estável por um braço metálico de modo a minimizar os movimentos relativos entre os eletrodos e a cabeça do animal. É importante salientar que a limitação de movimentos

oculares da coruja buraqueira faz com que, uma vez fixa a cabeça, podemos caracterizar propriedades do campo receptivo que se mantiveram estáveis.

### **3.3. Registros eletrofisiológicos e classificação dos potenciais de ação**

Potenciais de ação unitários extracelulares foram registrados através do uso de eletrodos feitos de um liga de platina e tungstênio cobertos por quartzo (Thomas Recording, Giessen, Alemanha), numa espessura de 80  $\mu\text{m}$  no corpo e aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  na ponta. Utilizamos um arranjo de um a três eletrodos montados dentro de micro-tubos guias eqüidistantes, compondo um só dispositivo, acoplados a micro-manipuladores hidráulicos de precisão (MO95, Narishige Scientific Instrument Laboratory, Tokyo, Japão), permitindo posicionamentos independentes de precisão de 1  $\mu\text{m}$ . A impedância dos eletrodos foi previamente verificada a cada sessão de registro, variando entre 0.3 a 0.7M $\Omega$ , a 1kHz.

A atividade neuronal estudada foi obtida a partir do registro de múltiplas unidades, ou seja, potenciais de ação de um pequeno grupo de neurônios localizados ao redor do eletrodo. Os sinais captados pelos eletrodos foram amplificados ( $\times 1000$ ) e filtrados (0.3 kHz – 7 kHz; Headset HST/16o25, caixa pré-amplificadora de 32 canais, Plexon Inc., Texas, EUA). A digitalização do sinal foi feita com uma frequência de amostragem de 32 kHz por uma placa A/D de 16 bits de resolução, com função de acionamento e temporização (PCI-6259, National Instruments, Austin, Texas, EUA), a qual efetuou um segundo estágio de amplificação ( $\times 10$ ). Os dados foram adquiridos sob o controle do sistema de programas computacionais NEUROSYNC, desenvolvido em LabView (National Instruments, Texas, EUA) pelo Dr. Sergio Neuenschwander (Instituto Max-Planck). A atividade registrada foi aquela que cruzou o limiar de, geralmente, três a quatro desvios padrões do traçado de voltagem.

O pré-processamento dos dados foi feito em tempo real para assegurar o isolamento da unidade registrada. Nessa etapa é feita uma triagem baseada na amplitude e formato de onda do potencial de ação. Posteriormente é feita uma triagem final mais refinada a partir dos dados gravados, utilizando um software desenvolvido pelo Dr. Nan-Hui Chen (Instituto Max-Planck). O processo de agrupamentos semi-automático utiliza um algoritmo de modelo de correspondência dinâmico seguido de manipulação manual, quando o

experimentador decide sobre a possível fusão dos aglomerados. A qualidade da classificação baseia-se em diferentes indicadores, como: 1) bom agrupamento dos escores da análise de componentes principais; 2) a não-violação de um período refratário absoluto de 2 ms verificada em histogramas de intervalo inter-potenciais; 3) a estabilidade na forma e amplitude do potencial de ação ao longo do tempo.

### **3.4. Caracterização dos campos receptivos e protocolos experimentais**

Uma vez isolada uma unidade visual, exploramos os limites de CRC manualmente movendo um estímulo em diversas velocidades e direções em frente à tela do monitor. Tais estimativas foram posteriormente refinadas utilizando estímulos gerados no computador e controlados pelo experimentador com o auxílio de um mouse, segundo o método de campo responsivo mínimo (CRM, Barlow *et al.*, 1967). Nele são utilizados estímulos como barras pretas ou brancas, pontos luminosos, padrões de xadrez, etc, com diferentes tamanhos e direções sobre o campo visual. O procedimento de mapeamento foi realizado independentemente para os olhos ipsi e contralateral, permitindo a determinação da dominância ocular. A vasta maioria das células encontradas em nossos experimentos eram binoculares, sendo o registro monocular, ou seja, o olho não-dominante ou não-responsivo era coberto. A partir desta primeira avaliação, os estímulos foram apresentados somente ao olho dominante e posicionados de acordo com o centro de seu CRM, correspondendo aproximadamente ao centro do monitor. Durante o mapeamento, era possível conhecer qualitativamente a preferência de orientação e a seletividade à direção de movimento da célula. Caso houvesse dúvida, optávamos por uma avaliação quantitativa, registrando a atividade neuronal em resposta a grades senoidais de alto contraste em movimento com variação do parâmetro de interesse. O mesmo foi feito para a determinação das frequências espacial e temporal preferidas.

Os estímulos foram apresentados em um monitor CRT de 19 polegadas (Samsung SyncMaster 955DF) em uma resolução de 1024 x 768 pixels e taxa de atualização vertical de 100Hz. O monitor foi posicionado a 66 cm de distância do olho da coruja, de tal forma que todas as estimulações com grades tivessem uma frequência espacial abaixo de seu limite de Nyquist a

essa resolução. Foi utilizado o padrão RGB de 8 bits e aplicada correção gama para produzir um comportamento linear da luminância apresentada. O fundo de tela apresentava uma luminância equivalente à média de luminância dos estímulos em grade de maior contraste ( $56.1 \text{ cd/m}^2$ ). Medidas fotométricas foram feitas a partir de um colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Reino Unido) para verificar a estabilidade da calibração do monitor. Os estímulos foram preparados off-line em seqüências de imagens bitmap utilizando uma série de rotinas escritas pelo Prof. Dr. Jerome Baron (Dep. Fisiologia e Biofísica, UFMG) em LabView e apresentados como filmes utilizando o software ActiveStim ([www.activestim.com](http://www.activestim.com)), visando garantir a precisão do tempo baseado em quadros. O computador utilizado para a estimulação visual era controlado por outro terminal Windows (Microsoft Corporation), de onde um protocolo experimental específico podia ser rapidamente configurado, salvo e acionado pelo experimentador. Este segundo computador servia igualmente para controlar estímulos visuais durante os procedimentos de mapeamento do campo receptivo. Cada estímulo foi apresentado 10 vezes em ordem pseudo-aleatória durante 2 ou 4 s, precedido e seguido da apresentação do fundo de tela durante 1 e 2 s respectivamente. Devido a dificuldade de se trabalhar com animais acordados, a otimização do tempo de registro foi imprescindível para o sucesso do experimento. Após um estudo em nosso laboratório (Pinto e Baron, 2009), foi estabelecida a faixa de freqüências espacial e temporal preferidas pelas células do wulst visual da coruja buraqueira. A partir destes dados, diminuimos o tempo de apresentação do estímulo de 4 para 2 s, pois este era suficiente para a conclusão de um ciclo de apresentação para as freqüências mais baixas.

As especificações sobre os estímulos apresentados serão feitas ao longo dos capítulos, assim como os métodos de análise de dados específicos utilizados para tratar cada problemática.

### **3.5. Análise geral de dados**

Após a seleção de unidades isoladas pelo método de triagem descrito acima, inspecionamos os dados em gráficos do tipo "raster" e em histogramas peri-estímulo (*PSTH*). Neste trabalho mostramos os resultados somente de unidades cuja resposta evocada era maior que a resposta espontânea (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) e cujo pico de atividade fosse maior que três

disparos por segundo. As células foram classificadas em simples e complexas seguindo um método de modulação de resposta, baseado na razão entre a amplitude da primeira harmônica da transformada de Fourier do sinal (F1) e sua taxa de disparo média (F0 ou DC, De Valois *et al.*, 1982; Skottun *et al.*, 1991). Um valor maior que 1 as classificou como simples, tendo em vista que estas células tendem a sofrer modulação em fase com o estímulo, enquanto células complexas elevam sua taxa de disparo com pequena ou nenhuma modulação (Martinez e Alonso, 2003a). As análises foram implementadas em um conjunto integrado de programas utilizando os softwares LabView e Matlab (The MathWorks Inc., EUA).

As curvas de somação espacial obtidas foram ajustadas com um modelo teórico baseado na diferença de duas Gaussianas (modelo DoG), uma excitatória e outra inibitória (figura 3.5.1), utilizando um pacote de ferramentas de ajuste de curvas (*Curve Fitting Toolbox*) em Matlab (The MathWorks Inc., EUA). Este modelo foi inicialmente descrito por Rodieck (1965) para células ganglionares na retina, levando em consideração a simetria do campo receptivo. Desde então tem sido amplamente utilizado e é hoje talvez o modelo matemático melhor conhecido no campo da neurociência da visão (Einevoll e Hepsleser, 2005). Sua aplicação na modulação centro-contorno foi relatada por vários autores (DeAngelis *et al.*, 1994; Sceniak *et al.*, 1999; Angelucci *et al.*, 2002; Ozeki *et al.*, 2004; Naito *et al.*, 2007; Alitto e Usrey, 2008, etc). A equação do modelo DoG, descrevendo a curva de somação espacial, é a seguinte:

$$R(x) = R_0 + K_e \int_{-s/2}^{s/2} e^{-|2y/a|^2} dy - K_i \int_{-s/2}^{s/2} e^{-(2y/b)^2} dy \quad (1)$$

onde  $R_0$  é a linha de base,  $a$  e  $b$  são as constantes espaciais excitatória e inibitória, respectivamente,  $K_e$  é o ganho excitatório e  $K_i$  é o ganho inibitório. O uso desta função foi feita utilizando sua dedução matemática empregando funções de erro de Gauss (*erf*):

$$R(x) = R_0 + [K_e \text{erf}(x/a) - K_i \text{erf}(x/b)] \quad (2)$$

A aplicação do modelo DoG foi feita sobre os valores médios da resposta calculados a partir de todas as repetições associadas a cada condição. A escolha do método de ajuste baseou-se na constatação da normalidade da contagem de potenciais de ação (*spike count*) da resposta em

cada repetição. Assim, o ajuste dos dados foi feito para cada neurônio utilizando o método não-linear dos mínimos quadrados (*nonlinear least squares*), o qual utiliza uma equação cujos coeficientes são não-lineares ou uma combinação entre lineares e não-lineares. Inicialmente o software realizou uma estimativa de cada coeficiente sob os quais gerou uma curva de ajuste. Em seguida foi feito um ajuste destes coeficientes e a determinação do quanto a curva poderia ser melhorada. A direção e magnitude deste ajuste foram determinadas pelo algoritmo de regiões de confiança (*trust-region*), o qual realiza uma aproximação quadrática da função-objetivo em uma região de confiança ao redor de um dado ponto. Dentro desta região limitada é possível determinar um ponto de mínimo a partir dos parâmetros de aproximação, e assim estimar o próximo ponto da seqüência. Foram feitas interações sucessivas da produção da curva de ajuste com seu conjunto de coeficientes até que o ajuste alcançasse o critério de convergência especificado (Mathworks, 2006). A escolha do algoritmo baseou-se em sua alta eficiência para resolver problemas não-lineares levando em consideração restrições dos coeficientes. Como modelos não-lineares são particularmente sensíveis aos pontos de partida dos coeficientes, estes foram determinados manualmente para cada célula. Após a avaliação dos valores encontrados, chegamos a um conjunto de valores de pontos de partida padrão ( $a=1.5$ ;  $b=7$ ;  $K_e=30$ ;  $K_i=20$ ), que foram testados e se mostraram tão eficientes quanto os individualizados.

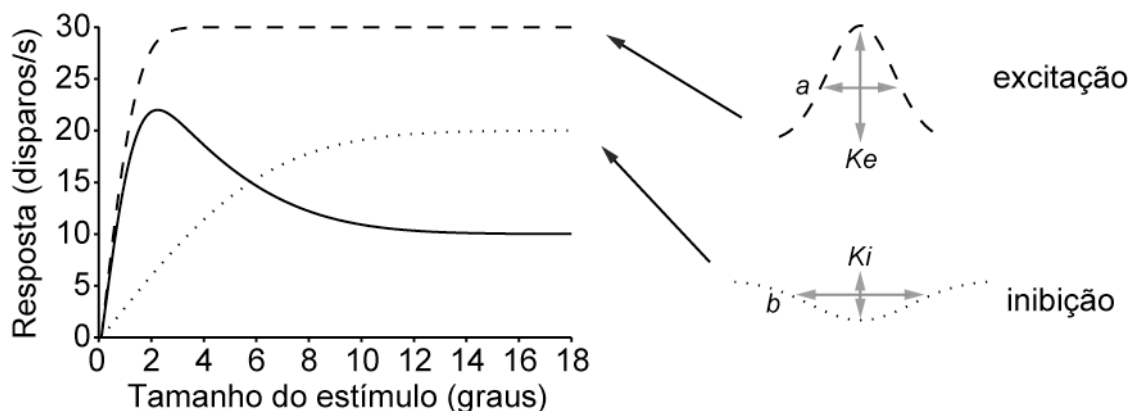


FIGURA 3.5.1: Representação do modelo teórico baseado na diferença de duas Gaussianas (modelo DoG, linha sólida), uma excitatória (linha tracejada) e outra inibitória (linha pontilhada), com suas respectivas constantes.

Visando manter a premissa que o centro é menor que o contorno, restringimos a variação das constantes espaciais para que a excitatória  $a$  fosse sempre menor que a inibitória  $b$ . Assim, adaptamos a equação implementada:



$$R(x) = R_0 + [K_e \operatorname{erf}(x/a) - K_i \operatorname{erf}(x/a+c)]$$

utilizando pontos de partida semelhantes ( $a=1.5$ ;  $c=5.5$ ;  $K_e=30$ ;  $K_i=20$ ). Os coeficientes foram restringidos, de forma que seu limite inferior fosse zero e seu limite superior infinito (sem restrição).

A figura 3.5.2(A-D) mostra gráficos de simulações das variações de cada constante do modelo DoG, baseado nos valores utilizados como ponto de partida. Neles vemos as influências específicas destas constantes no perfil da resposta em função do aumento de tamanho do estímulo. É importante ressaltar que a constante espacial excitatória  $a$  tem uma participação crucial na determinação do pico da curva, considerado por nós como o tamanho do campo receptivo clássico, melhor explicado no capítulo 2.

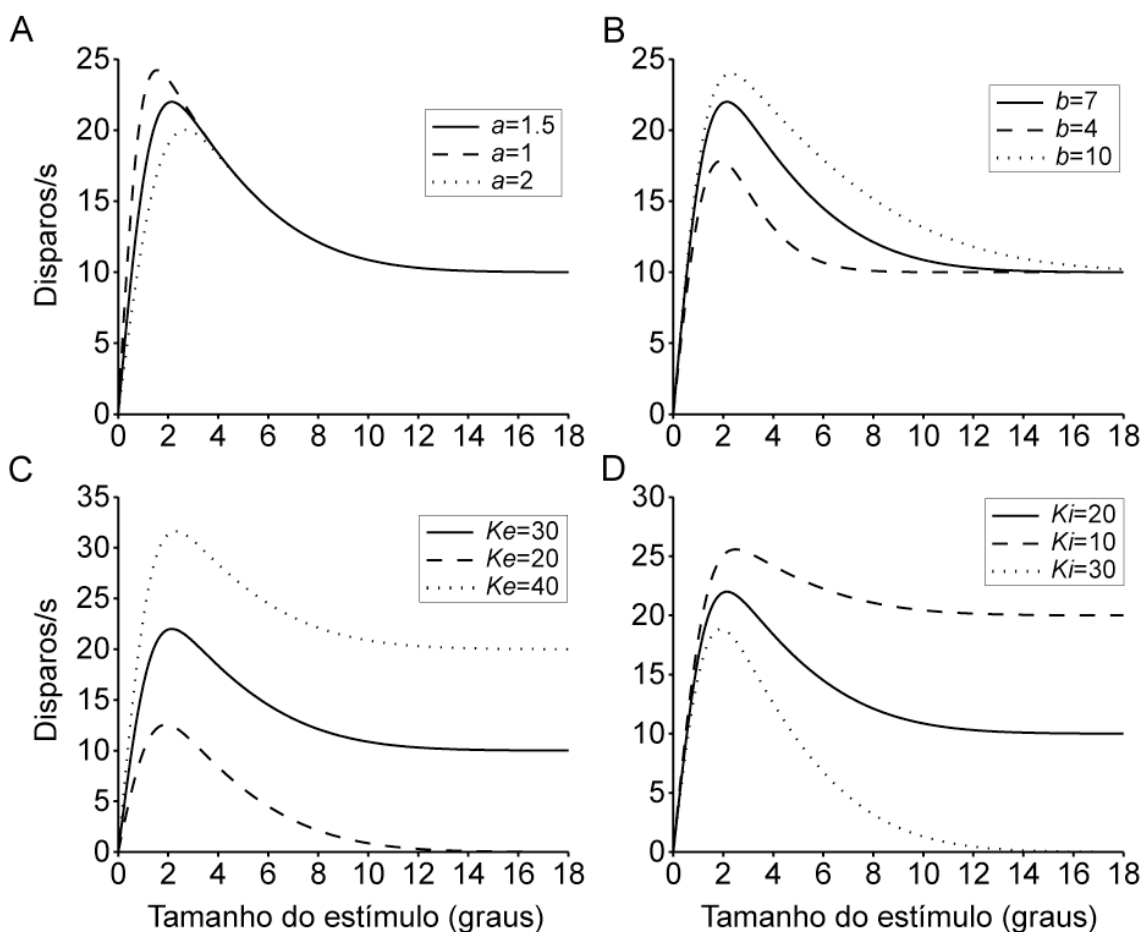


FIGURA 3.5.2: Gráficos demonstrando a simulação da variação das constantes do modelo DoG. (A-D) A linha sólida representa a curva baseada nos valores utilizados como pontos de partida, sendo a mesma em todos os gráficos. As linhas tracejada e pontilhada representam valores menores e maiores que os do ponto de partida, respectivamente, que variaram de acordo com a constante em questão. (A)  $a$  = constante espacial excitatória; (B)  $b$  = constante espacial inibitória; (C)  $K_e$  = ganho excitatório; (D)  $K_i$  = ganho inibitório.

A avaliação da qualidade do ajuste baseou-se no coeficiente de determinação  $R^2$ , o qual mede o quanto a regressão se aproxima dos pontos reais, computado como:

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

onde  $SS_{ajuste}$  é a soma dos quadrados dos resíduos extraídos do ajuste e  $SS_{total}$  é a soma dos quadrados da diferença entre cada valor da regressão e a média desses valores. Visando validar estatisticamente o ajuste, utilizamos o teste F sobre os valores de  $R^2$  obtidos.

### 3.6. Análise estatística

Nossos dados foram sistematicamente verificados quanto a sua normalidade utilizando a modificação Lilliefors do teste Kolmogorov-Smirnov. Se a normalidade fosse confirmada, aplicamos o teste-t para comparação de médias entre duas populações ou o teste ANOVA para comparações feitas entre mais de duas populações. Caso contrário, utilizamos o teste Wilcoxon para diferenças entre pares ordenadas ou o teste Kruskal-Wallis, como os equivalente não-paramétricos do teste-t e ANOVA, respectivamente. A relação entre grupos foi demonstrada a partir da correlação de Pearson (coeficiente  $r$ ) para dados paramétricos e Spearman (coeficiente  $\rho$ ) para os não-paramétricos. Para a comparação com a atividade espontânea utilizamos a sobreposição dos intervalos de confiança como método. A não ser que seja especificado de outra forma, as medidas de tendência central foram representadas como a média aritmética  $\pm$  erro padrão da média (EPM). O nível de significância adotado foi de  $p < 0.05$ .

## **4. CAPÍTULO 1: Considerações metodológicas**

### **4.1. Apresentação**

Estudos sobre as propriedades das respostas neuronais, através da análise de descargas de potenciais de ação, têm gerado avanços consideráveis na nossa compreensão sobre como o sistema nervoso codifica informações. Porém, os mecanismos pelos quais respostas são formadas e integradas dentro do cérebro ainda não foram elucidados (Fee *et al.*, 1996). Segundo Edgar Adrian, com quem Sherrington dividiu o prêmio Nobel de 1932, os potenciais de ação unitários são fundamentais como meio de comunicação cerebral, fazendo com que registros unitários em animais acordados sejam cruciais para o entendimento de como o cérebro processa informação.

Registros extracelulares da atividade cerebral geralmente contêm sinais de mais de um neurônio. A decomposição deste sinal multi-unitário em sinais unitários é possível somente se o formato de onda de neurônios individuais for diferente, formato este que varia com o tipo e distribuição espacial das correntes celulares e em função da posição e geometria do eletrodo (Fee *et al.*, 1996). Em uma sessão de registro, e posteriormente na análise dos dados, são várias as etapas de processamento do sinal que nos permitem concluir sobre a função neuronal. Este capítulo tem como objetivo apresentar informações sobre a obtenção dos dados utilizados nesta tese e realizar algumas considerações metodológicas.

### **4.2. Resultados**

A primeira avaliação que fizemos baseou-se na compilação de informações coletadas juntamente com os dados. Para melhor compreendê-la, é necessário descrever brevemente os protocolos de registro, que serão melhor detalhados nos capítulos seguintes. O principal protocolo desta tese consiste de grades senoidais circulares em movimento em diferentes diâmetros, variando de  $0.36^\circ$  a  $18^\circ$  de ângulo visual. Quando estas grades foram apresentadas sozinhas receberam o nome "G". Foi registrado de maneira intercalada com o protocolo G, cujo contraste era 97%, um conjunto de grades semelhantes cuja única diferença era o contraste a 10%. Ao protocolo contendo estes dois conjuntos de estímulos, com dois contrastes diferentes, foi

dado o nome "Gcont". Além deste, outro estímulo foi registrado de maneira intercalada com G, sendo um conjunto de anéis de grades senoidais em movimento a 97% de contraste, cujo diâmetro externo era fixo e o interno variava de maneira complementar ao aumento de tamanho de G. Ao conjunto de estímulos de grade e seu anel complementar demos o nome "GA" (*grating annulus*). O protocolo "Gtotal" consiste na compilação dos diversos protocolos G, apresentados ora sozinhos, em Gcont ou em GA, sendo considerado, porém, somente um protocolo por célula, no caso de terem sido registrados mais de um. Por outro lado, o protocolo "CSG" (*center surround grating*), de diâmetros fixos, mantém a estimulação de CRC em uma única direção e CREC é estimulado por um anel em 16 direções diferentes.

Durante a aquisição de dados deste trabalho, foram utilizadas 13 corujas buraqueiras (*Athene cunicularia*), sendo que em duas foi registrado um número muito pequeno de células excluídas da nossa amostra devido a fatores explicitados ao longo do texto. Assim, a tabela 4.2.1 detalha os 11 animais de onde se originaram as células que compõem nosso conjunto de dados. Para a obtenção destas células, foram realizadas 132 sessões de registro, número este que não inclui as tentativas frustradas de gravar ao menos um dos protocolos experimentais. Devido à extensa caracterização das propriedades individuais de cada célula, era grande a probabilidade da coruja efetuar pequenos movimentos, ajustando sua posição sobre o poleiro. Caso a intensidade do movimento fosse maior, o isolamento celular poderia ser perdido, o que às vezes levava a sessões inteiras que não passavam da busca e/ou caracterização unitária. A duração de cada sessão variava de 3 a 5 horas, sendo o estado geral do animal o seu determinante.

Neste trabalho são exploradas unidades oriundas de 149 sítios de registro diferentes. Ao penetrar com o eletrodo em busca de células isoláveis, cada altura em que parávamos para registrar era considerada um sítio. Em cada sítio, foram registradas de uma a três células isoladas, como ilustrado na figura 4.2.1. A profundidade de cada sítio era medida indiretamente através de sua altura, indicada pelo micromanipulador, subtraída da altura de penetração no wulst. Nem sempre foi possível estimar esta profundidade, pois em alguns casos o ruído no sinal produzido quando o eletrodo atravessava a *dura mater* não foi característico. A figura 4.2.2 mostra uma estimação das profundidades das células referente à superfície do wulst, das unidades que compõem o

nosso conjunto de dados em que foi possível esta estimação ( $n=146$ ). Durante a busca por unidades isoladas, na maior parte da vezes estas eram encontradas durante a penetração do eletrodo, ou seja, em sua descida. Porém, em alguns casos as células registradas eram encontradas quando o eletrodo estava sendo retirado, ou seja, subindo. Devido à diferença na pressão que o eletrodo exercia no tecido nervoso, em alguns destes casos, a subtração entre a altura da célula registrada e a superfície do wulst resultou em valores negativos. Ainda, na figura 4.2.2 fica evidenciado que nossos registros foram, em sua maioria, na parte mais superficial do wulst.

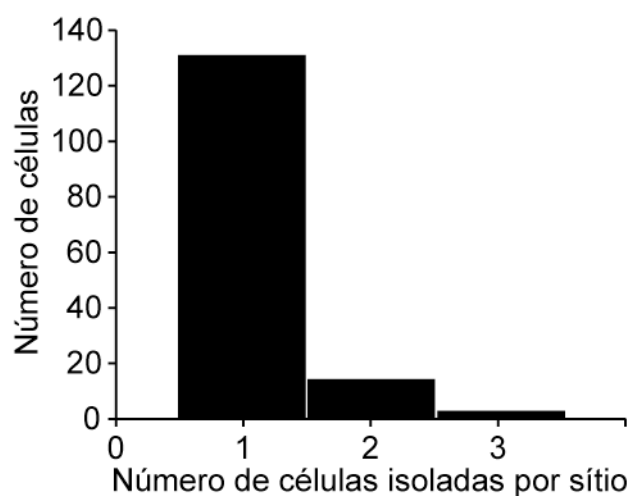


FIGURA 4.2.1: Número de células isoladas por sítio de registro. Foram consideradas somente as unidades que juntas compõem o conjunto de dados ( $n=167$ ).

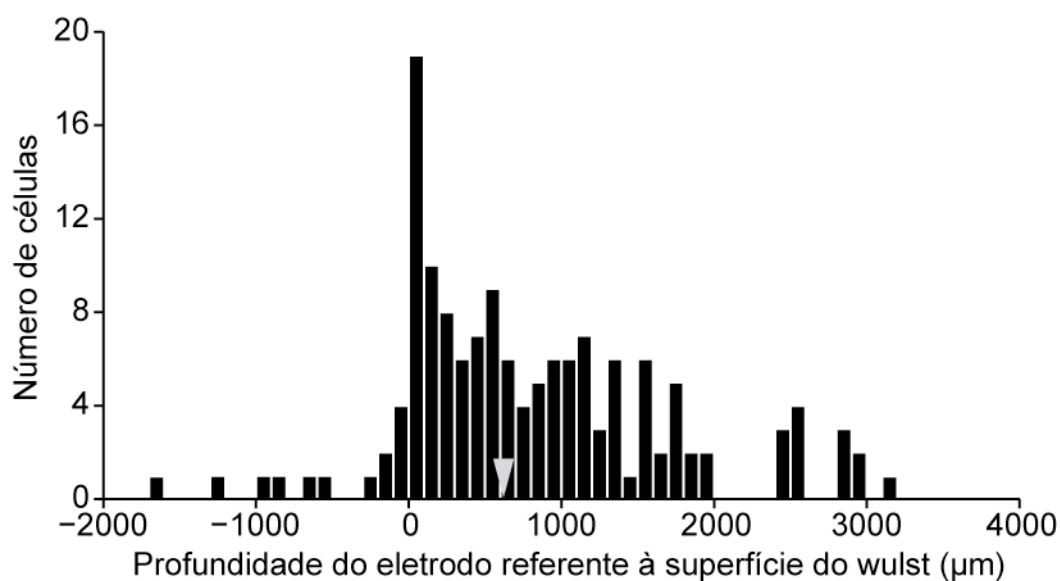


FIGURA 4.2.2: Profundidade do eletrodo referente à superfície do wulst. A seta cinza indica a mediana ( $n=146$ ).

Ao todo, foram registradas 224 células, das quais apenas 167 formam nosso conjunto de dados, ou seja, um aproveitamento de 75%. Dos 25% excluídos, foram vários os critérios de exclusão, sendo que uma mesma célula pode ter se enquadrado em mais de um. Assim, considerando somente a população excluída, 16% foram pilotos de experimentos, cujos parâmetros de estimulação eram diferentes. Além destas, 40% foram consideradas multi-unitárias, devido à instabilidade do registro, mudança de amplitude e/ou formato de onda ao longo do tempo, utilizando a análise de triagem de potenciais de ação como referência. Através de análises estatísticas da resposta unitária, 26% das unidades foram excluídas por apresentarem atividade evocada menor que a espontânea e 18% por não sofrerem modulação significativa pelo estímulo. Embora não tenham sido excluídas, 6 unidades tiveram seu número de repetições alterado, fugindo do padrão 9-11. Avaliamos sua resposta e julgamos favorável mantê-las na análise.

A tabela 4.2.1 ilustra, dentre as 167 células que compõem nosso conjunto de dados, quais foram registradas nos diversos protocolos explorados nesta tese, lembrando que várias vezes foram registrados mais de um protocolo para uma mesma célula. Fora as diferenças cronológicas na utilização dos animais e aquisição dos dados, intimamente relacionada com o tipo de estimulação de uma mesma unidade, podemos perceber que o número de células isoladas por coruja, mesmo levando em consideração o número de sessões de registros, varia muito. O sucesso de registros com animais acordados onde os movimentos são restritos, mas não completamente abolidos, depende do comportamento e do condicionamento destes animais. A tabela 4.2.1 permite uma avaliação comparativa entre as corujas, ordenadas de acordo com o número total de células exploradas. Nela fica evidente a tamanha contribuição de determinados animais. O fator limitante da utilização de uma coruja era a presença de fibrose na *dura mater*, impedindo a penetração dos eletrodos. Esta fibrose, mesmo diminuída com o uso de dexametasona tópica (ver material e métodos), ainda era presente a longo prazo.

Os estímulos apresentados na aquisição de dados deste trabalho foram confeccionados utilizando diversos parâmetros, como tamanho, contraste, direção, fase e frequências espacial e temporal. Dentre eles, o contraste e a fase foram mantidos como parâmetros fixos, logo não variavam com a preferência celular. O contraste utilizado em todos os protocolos foi de

TABELA 4.2.1: Apresentação da população neuronal registrada.

Corujas	Nº registros/ coruja*	Nº sítios/ coruja**	Nº células/ coruja**	Nº células/ G***	Nº células/ GA***	Nº células/ Gcont***	Nº células/ CSG***	Nº células/ Gtotal****
AC0804 (Ozzy)	33	46	51	6	10	43	11	50
AC0607 (Afrânio)	21	30	34	0	7	34	2	34
AC0808 (Tony)	15	13	19	3	7	16	0	19
AC1003 (Bocuse)	14	17	18	0	0	0	18	0
SC0516 (Kuler)	9	11	12	12	0	0	0	12
AC0901 (Yuri)	11	10	9	0	9	0	7	9
AC0504 (Branca)	11	7	8	6	1	2	0	8
AC0702 (Judas)	11	7	8	3	3	0	3	6
AC0606 (Juju)	4	6	6	6	0	0	0	6
AC0608 (Lima)	2	1	1	1	1	0	0	1
AC1002 (David)	1	1	1	0	0	0	1	0
<b>Total</b>	132	149	167	37	38	95	42	145

\* Somente os dias em que foram encontradas unidades isoladas estáveis.

\*\* Somente as células selecionadas para análise.

\*\*\* Somente células selecionadas para análise, sendo que pode ter sido registrado mais de um protocolo por célula.

\*\*\*\* Somente células selecionadas para análise, descartando protocolos registrados mais de uma vez para a mesma célula.

97%, sendo que no protocolo Gcont foi também utilizado o de 10%, independente de onde estes pontos corresponderiam em uma curva de sensibilidade ao contraste específica para a célula a ser registrada. A escolha de ambos os valores baseou-se em um detalhado estudo de nosso laboratório, a dissertação de mestrado de Pedro Gabrielle Vieira (2010), sobre a resposta de neurônios do wulst à variação do contraste (detalhado no capítulo 4). A fase dos estímulos, embora de menor importância para um estímulo em movimento, foi iniciada sempre em 0°.

Dentre os parâmetros variáveis, o tamanho dos estímulos foi o de maior interesse nesta tese. A descrição detalhada de sua variação se encontra no capítulo 2. A direção utilizada na estimulação dos neurônios do wulst foi escolhida quantitativamente através de protocolos de caracterização apresentados individualmente para cada unidade registrada. Porém, as frequências espacial e temporal foram qualitativamente avaliadas de acordo com a preferência celular. A figura 4.2.3 compara estas frequências com outras obtidas de maneira quantitativa em um prévio trabalho de nosso grupo, parte da dissertação de mestrado de Lucas Pinto (Pinto e Baron, 2009). Em A, o histograma mostra a prevalência das frequências espaciais escolhidas qualitativamente de acordo com a resposta neuronal. O pequeno histograma inserido representa a mesma prevalência, porém para dados coletados quantitativamente e posteriormente ajustados em um modelo teórico, o que explica a presença de valores na ordenada que intercalam os representados na figura maior. Em B, as prevalências das frequências temporais obtidas qualitativamente e quantitativamente estão igualmente ilustradas. A diferença encontrada entre os gráficos que representam o mesmo parâmetro está relacionada à presença do ajuste com o modelo teórico, validando nossa escolha qualitativa. Embora não tenhamos utilizado frequências espaciais muito altas, o posicionamento do monitor a 66 cm baseado no limite de Nyquist deve-se ao fato de os dados que compõem esta tese terem sido inicialmente coletados em conjunto com o estudo das frequências espacial e temporal preferidas por neurônios do wulst (Pinto e Baron, 2009).



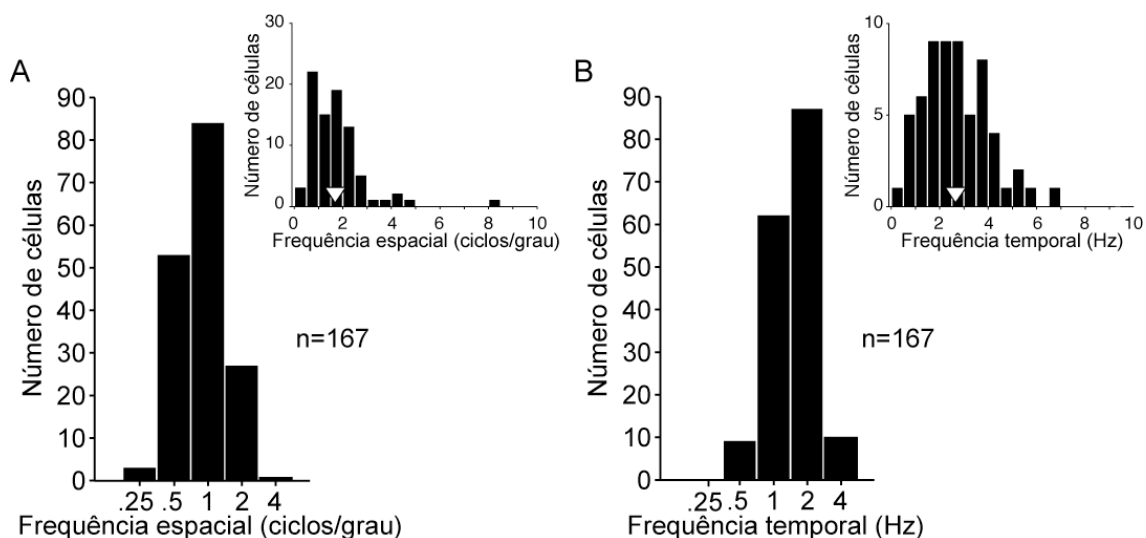


FIGURA 4.2.3: Distribuição das freqüências espacial (A) e temporal (B) utilizadas na estimulação das células que compõem nosso conjunto de dados. Os gráficos menores inseridos na figura mostram histogramas semelhantes, porém provenientes de uma avaliação quantitativa e ajustados com um modelo teórico (adaptados de Pinto e Baron, 2009). As setas brancas indicam as medianas.

### 4.3. Discussão

No estudo da modulação centro-contorno, é de crucial importância que um bom mapeamento do campo receptivo seja feito para que o estímulo esteja centralizado corretamente. Além disso, como utilizamos animais acordados, é possível que pequenos movimentos oculares, por menores que sejam, tenham igualmente interferido nesta centralização. Estudos anteriores mostraram que a amplitude destes movimentos é de  $0.5^\circ$  em corujas buraqueiras (ver introdução). Como a mediana do tamanho de CRC encontrada em nossos resultados foi de  $2.17^\circ$  (capítulo 2), se estes movimentos fossem de amplitude significativa, teríamos provavelmente visto um erro em nossos dados, na forma de aumento da variação entre cada repetição da apresentação de um mesmo estímulo. Assim, acreditamos que a movimentação ocular em nosso animais experimentais era mínima, se presente.

O tamanho dos campos receptivos pode mudar de acordo com sua localização na retina, se mais perto da fóvea ou da periferia (Pettigrew, 1979). Porém, nós não verificamos a excentricidade na retina dos campos receptivos estimulados, o que não se tornou um obstáculo para que nós soubéssemos sua posição relativa. Baseado no mapa visuotópico de corujas descrito por Pettigrew (1979), a representação foveal no wulst ocupa uma área relativamente grande, utilizada como referência para a implantação cirúrgica das câmaras de registro (ver material e métodos). A pequena variação do

tamanho de CRC dentro da área de superfície da craniotomia nos permite afirmar que os neurônios do wulst visual registrados neste trabalho estavam, com alguma certeza, localizados nas áreas foveal ou parafoveal.

A avaliação das posições dos sítios de registro dentro do wulst foi feita indiretamente utilizando as coordenadas dos eletrodos, visto que nós não fizemos lesões eletrolíticas seguidas de análise histológica. A posição relativa das penetrações foi definida pela mesa com coordenadas X e Y utilizada como suporte para o dispositivo multi-eletrodos. Além disso, utilizamos a altura dos eletrodos, conforme o micromanipulador hidráulico, para estimar a profundidade dos sítios de registro. A penetração dos eletrodos na *dura mater* possui um ruído característico, o que nos permitiu estimar quando eles tocavam a superfície do wulst. Conseqüentemente, fomos capazes de fazer uma aproximação de qual camada estávamos registrando, visto que as três camadas do wulst são relativamente espessas (Karten *et al.*, 1973). É importante observar que o uso de animais silvestres, cuja disponibilidade depende de doações do IBAMA, dificulta a realização de procedimentos experimentais que envolvam sacrifício, uma vez que a quantidade de espécimes que chega ao laboratório não é constante. Durante a obtenção de dados desta tese nenhum animal experimental foi sacrificado, permitindo sua reutilização em outros projetos, como os que envolvem estudos anatômicos do olho, por exemplo.

Uma das grandes vantagens do uso de grades senoidais como estímulo é que elas permitem a variação independente de parâmetros específicos como contraste, freqüências espacial e temporal, tamanho, fase e direção. Grande parte do que conhecemos sobre as propriedades de resposta de neurônios em V1, assim como tentativas de construção de modelos que consigam prever uma resposta a um estímulo visual arbitrário, baseiam-se no uso de estímulos artificiais, extremamente úteis para a validação e compreensão de falhas desses modelos (Rust e Movshon, 2005). Dentre todos os métodos de classificação de comportamentos de respostas em V1 depois de Hubel e Wiesel, o que tem sido mais utilizado baseia-se nas respostas de neurônios corticais a grades senoidais em movimento (Alonso e Chen, 2009). É sabido que estímulos como flashes ou barras não induzem resposta de todas as células do córtex estriado, e grades quadradas não podem ser utilizadas para classificação simples e complexa, por ter várias componentes de freqüência

alta (Skottun *et al.*, 1991). Além disso, o fato de grades senoidais serem ferramentas ubíquas na neurofisiologia do sistema visual e psicofísica (Olshausen e Field, 2005) permite a comparação entre diversos trabalhos na literatura.

## 5. CAPÍTULO 2: Supressão causada pelo contorno

### 5.1. Apresentação

A supressão causada pelo contorno, como previamente mencionado, é o efeito mais observado nos estudos sobre a modulação centro-contorno. Um paradigma muito utilizado para investigar estes efeitos em V1 é apresentar um estímulo, centrado no CRC do neurônio, e estudar a resposta a medida em que seu tamanho aumenta (Sceniak *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a). Neste trabalho utilizamos o protocolo G, nome dado a um conjunto de 10 a 17 estímulos de grades senoidais circulares em movimento com 97% de contraste, cujos diâmetros variaram de  $0,36^\circ$  a  $18^\circ$  de ângulo visual (figura 5.1.1) apresentados de forma pseudo-aleatória. As frequências espacial e temporal, assim como a direção, foram escolhidas baseadas nas preferências celulares (ver metodologia para detalhes).



FIGURA 5.1.1: Protocolo G, formado por um conjunto de estímulos centrados em CRC cujo diâmetro aumentou progressivamente.

Tipicamente, a resposta celular a esta estimulação pode ser dividida em duas partes: somação espacial, na qual a facilitação da resposta aumenta, seguido de uma supressão de, em média, 35% do valor máximo (figura 5.1.2, Sceniak *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a).

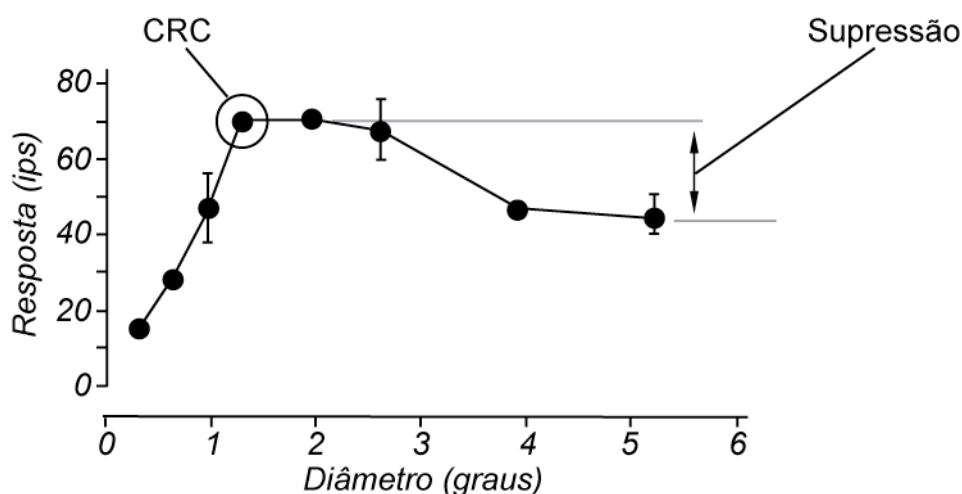


FIGURA 5.1.2: Exemplo de curva de seletividade ao tamanho, mostrando o ponto considerado equivalente ao tamanho do campo receptivo clássico (CRC) e a diferença na resposta, indicativa de supressão (ips = impulsos por segundo). Adaptado de Cavanaugh (2002a).

Uma das premissas da interação centro-contorno é que o contorno, por si só, não induz resposta. Visando avaliar se esta premissa é válida para neurônios do wulst visual de corujas, utilizamos como estímulo uma grade senoidal que se assemelha a um anel, cujo diâmetro interno aumenta de tamanho de forma complementar ao protocolo G, ou seja, 10 a 17 estímulos variando entre  $0.36^\circ$  e  $18^\circ$ , e o diâmetro externo é mantido fixo (inicialmente utilizamos  $21^\circ$ , passando a  $12^\circ$  após conhecer melhor as respostas). Seu contraste foi mantido em 97% e as freqüências espacial e temporal, assim como a direção, foram escolhidas baseadas na preferência celular. Ao conjunto de estímulos, composto por G e os anéis apresentados em ordem pseudo-aleatória, atribuímos o nome GA (figura 5.3).



FIGURA 5.1.3: Protocolo GA, formado pelo protocolo G (linha de cima) em conjunto com anéis de tamanho fixo cujo diâmetro interno aumentou de forma complementar a G (linha de baixo).

Embora tenhamos feito uma distinção entre o protocolo Gtotal e o protocolo G no capítulo 1, deste ponto em diante no texto vamos citar somente o protocolo G para nos referir ao conjunto de estímulos cujo o diâmetro aumenta progressivamente. Quando necessário será mencionado se este conjunto de estímulos foi apresentado juntamente a outro.

## 5.2. Resultados

Os resultados apresentados neste capítulo foram registrados em 145 unidades da área foveal/parafoveal do wulst visual da coruja buraqueira. As células classificadas como simples e complexas não mostraram diferença nas análises aqui descritas, sendo todas agrupadas em uma única categoria. Uma avaliação mais detalhada quanto a esta classificação será feita em um capítulo a seguir.

As respostas obtidas em função da variação do tamanho do estímulo foram semelhantes às previamente descritas na literatura para neurônios do

córtex visual primário de mamíferos. A unidade 1 da figura 5.2.1 representa o perfil de resposta mais observado em nossa amostra. Assim como previamente descrito na apresentação do capítulo, à medida em que cresce o tamanho do estímulo, a resposta supra-limiar aumenta até atingir seu máximo, considerado o CRC, seguido de uma supressão quando ambos centro e contorno são estimulados. Esta supressão se estabiliza para tamanhos maiores de estímulo, alcançando um platô. Tal descrição pode ser observada tanto em A, onde foi representada a atividade de cada uma das 9 a 11 repetições de cada estímulo ao longo do tempo (gráfico "raster"), sobrepostas pelo histograma peri-estímulo (suavizado com um filtro Savitzky-Golay para facilitar a visualização), quanto em B, através da curva de somação espacial. Em B, a linha cinza junto aos pontos é resultante do processo de ajuste do modelo DoG. Em nossos dados, foram encontrados distintos tipos de perfis de curva resultantes deste ajuste. A figura 5.2.1 mostra exemplos dos três grupos que foram incluídos em nossas análises populacionais. A unidade 1 representa a classe "supressão". Já a unidade 2 é classificada como "sem supressão", por manter sua atividade elevada em seu máximo após CRC, ou seja, por não sofrer supressão pela estimulação de CREC. Unidades com menos de 5% de supressão foram igualmente incluídas neste grupo (cálculo baseado na diferença entre a atividade máxima e mínima após o pico, como demonstrado a seguir). O tamanho de CRC destas células foi estimado como sendo 95% da atividade máxima. Devido a ausência de supressão gerada pelo contorno, os resultados apresentados para este tipo celular são resultantes do reajuste por uma adaptação do modelo DoG, o qual parte da teoria que o campo receptivo pode ser representado pela diferença entre a integral de duas Gaussianas, uma excitatória e outra inibitória. Em nossa adaptação utilizamos somente a integral de uma Gaussiana excitatória (ver metodologia), que reproduziu igualmente bem este perfil de resposta, embora a partir dele todas as células que compõem o grupo passaram a apresentar supressão igual a zero. A unidade 3 é um exemplo do grupo "sem platô", visto que a supressão causada pela estimulação do contorno não se estabiliza ou não alcança um platô. Este fato pode estar relacionado à limitação dos tamanhos experimentais dos estímulos escolhidos. Ainda para este grupo, o pico da atividade, considerado como o tamanho de CRC, foi calculado da mesma forma que para o grupo "supressão".

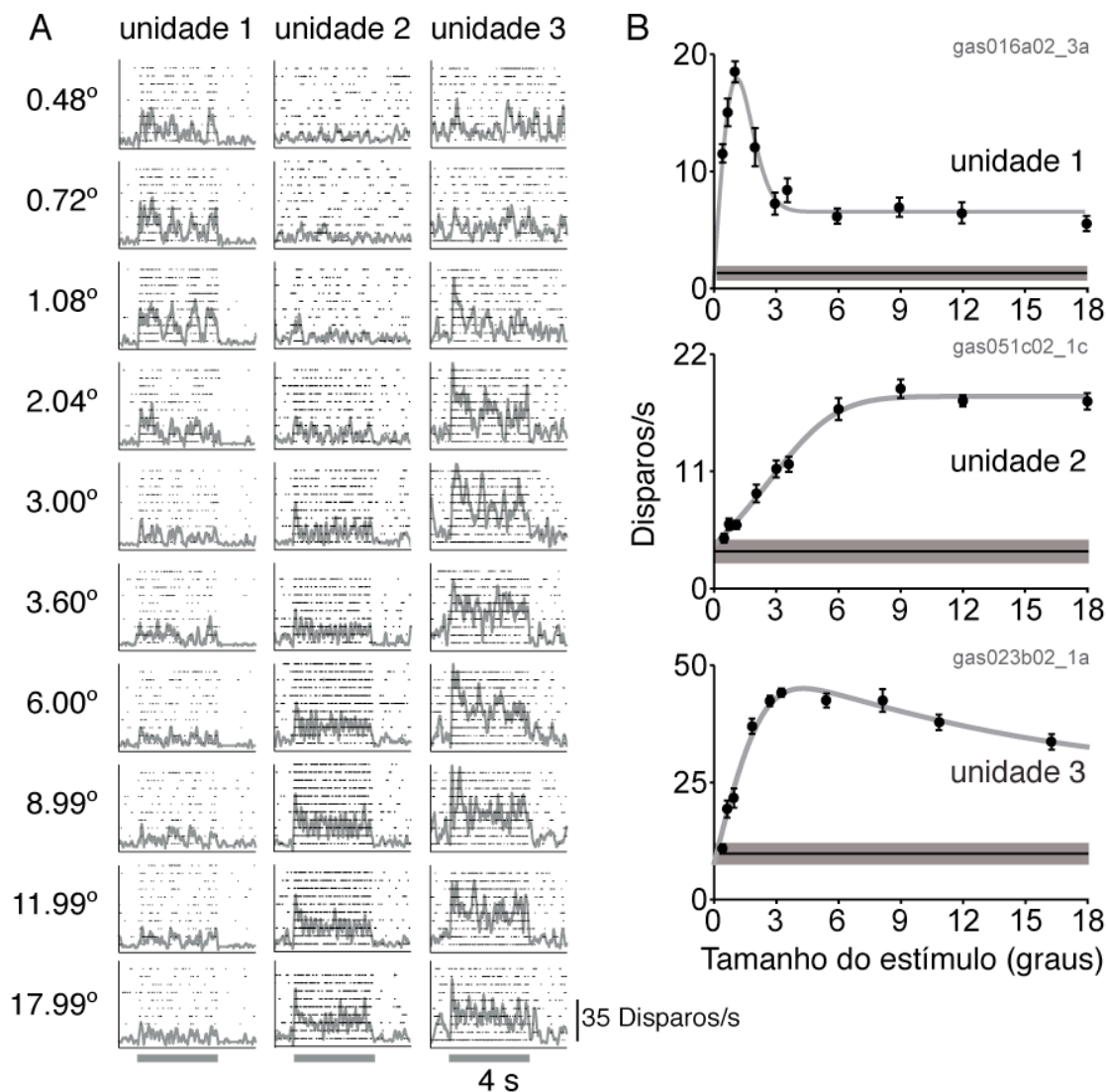


FIGURA 5.2.1: Resposta de três diferentes neurônios representativos do wulst visual a grades senoidais de tamanho crescente. (A) Gráficos do tipo "raster" mostrando as respostas de cada repetição (9-11) sobrepostas com um histograma peri-estímulo suavizado representando a média destas repetições. O período de estimulação, simbolizado pelas barras cinzas abaixo das colunas que representam células diferente, foi de 4s precedido (1s) e seguido (2s) pela atividade espontânea (registro do fundo de tela). (B) Curvas de somação espacial das mesmas unidades em A. A unidade 1 foi classificada no grupo "supressão", enquanto a unidade 2 é do tipo "sem supressão" e a 3 pertencente ao grupo "sem platô". Os pontos representam a média do período total de estimulação  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que a linha cinza junto a eles é resultante do ajuste da curva pelo modelo DoG. As barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade.

Além destes três perfis, encontramos dois outros tipos de resposta celular que, embora excluídos da análise populacional, foram avaliados individualmente. As figuras 5.2.2-A e B mostram duas curvas de ajuste caindo à medida em que o tamanho do estímulo aumenta. Entretanto, há uma diferença entre elas. O primeiro ponto da curva em A é menor que o segundo, considerado o pico da atividade. Utilizando o ajuste sem restrição, a curva obtida é semelhante a um decaimento exponencial. Porém, ao limitarmos a

relação entre as constantes espaciais para  $a < b$  (ver metodologia), esta diferença entre os valores iniciais da curva são levados em consideração e seu perfil passa a pertencer ao grupo "supressão" (ver linha pontilhada). Este perfil foi encontrado quando CRC era pequeno e havia poucos pontos na região de somação espacial. Em B, mesmo com restrições, o tipo de ajuste se manteve o mesmo, como pode ser observado pela sobreposição das curvas (linhas contínua e pontilhada). Acreditamos que o campo receptivo clássico das células pertencentes a este grupo era menor do que os tamanhos experimentais de estímulos escolhidos.

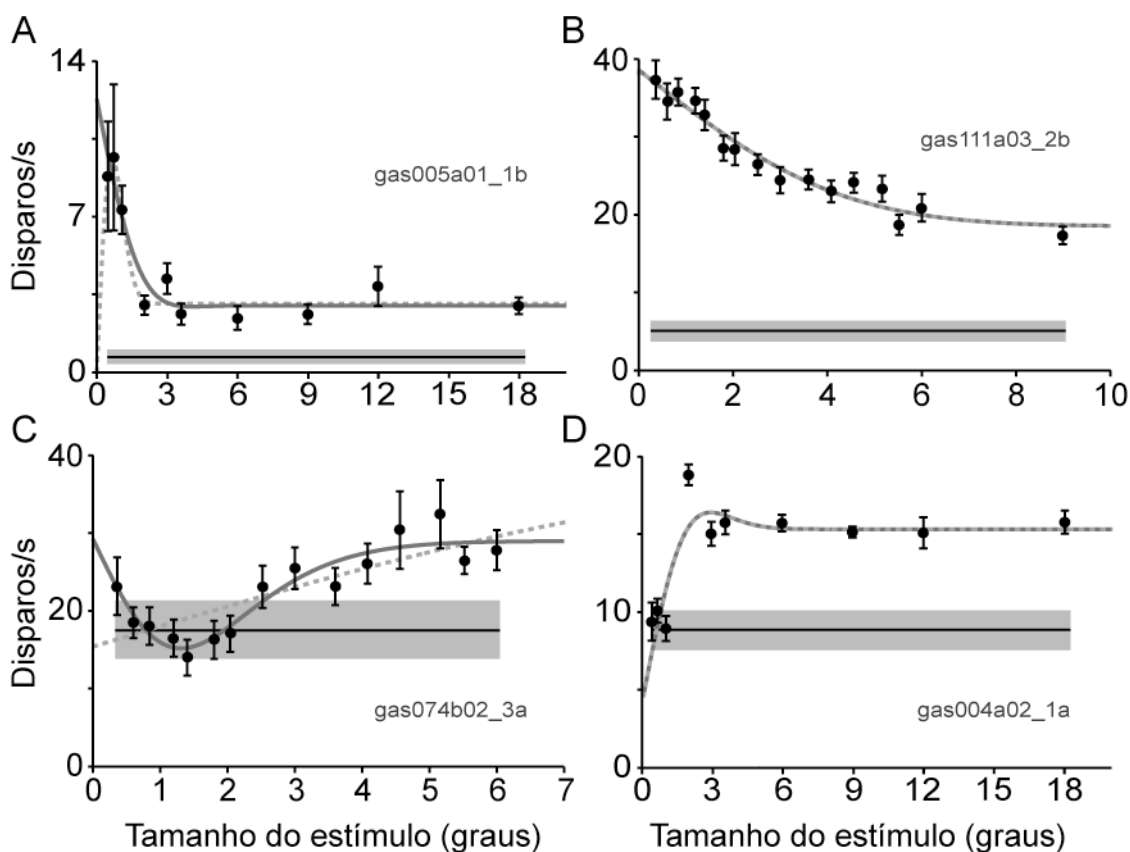


FIGURA 5.2.2: Diferentes perfis de resposta obtidos com o ajuste da curva utilizando o modelo DoG com parâmetros distintos. (A-D) A linha cinza contínua junto aos pontos é resultante do ajuste limitando-se a equação para que a constante espacial excitatória  $a$  fosse sempre menor que a constante espacial inibitória  $b$ ; a linha pontilhada representa o ajuste sem esta limitação. Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que as barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade.

O segundo perfil não incluído em nossa análise populacional encontra-se exemplificado na figura 5.2.2-C. Nele, a célula sofre uma supressão antes do pico de atividade, seguido de um aumento da resposta que se estabiliza em um platô. Como a supressão nos pontos iniciais foi semelhante à atividade espontânea, é possível que esta célula precisasse de uma estimulação espacialmente maior para alcançar uma excitação distinguível



dos valores basais. Da mesma forma que a unidade em B, a restrição de parâmetros da curva de ajuste resultou em dois perfis de curvas distintos. Ao limitarmos  $a < b$ , o perfil da curva de ajuste passou a ser monotônico, fazendo com que os pontos experimentais fossem vistos como *outliers*.

As limitações do ajuste, assim como a presença de *outliers* na amostragem, fez com que várias unidades apresentassem um  $R^2$  menor que 0.8, que junto com a significância de 95% para o teste F do ajuste foram considerados por nós como critério de exclusão da análise populacional. Um exemplo pode ser visualizado na figura 5.2.2-D, onde a curva resultante do ajuste passou longe do ponto experimental de maior atividade. Porém, no geral, encontramos uma forte relação ao compararmos valores estimados com os pontos experimentais (dado bruto) e os estimados a partir da curva de ajuste, como será explicado a seguir. Logo, avaliamos que o modelo DoG representa satisfatoriamente o comportamento resultante do aumento de tamanho de grades senoidais em neurônios do wulst visual. A figura 5.2.3 mostra a distribuição do coeficiente de determinação de todas as células registradas para o protocolo G.

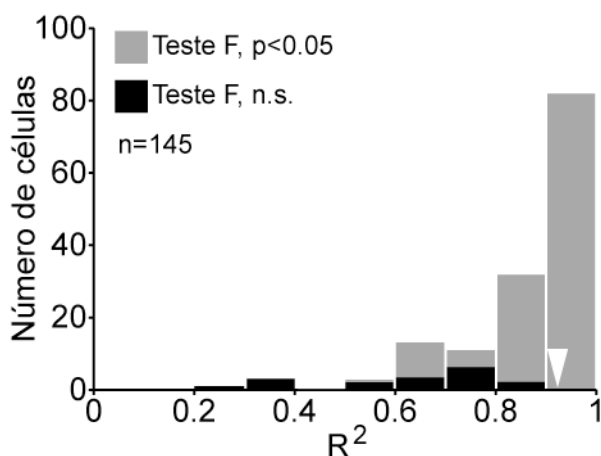


FIGURA 5.2.3: Distribuição do coeficiente de determinação  $R^2$  utilizado como índice da qualidade do ajuste do modelo DoG. Em cinza, as unidades que foram significativas para o teste F; em preto as que não foram significativas (n.s.). A seta branca indica a mediana de 0.917. Tamanho do bin igual a 0.1.

Dentre as 145 células registradas que atendem a todos os critérios de inclusão explicitados previamente, 31/145 apresentam  $R^2$  menor que 0.8 e/ou um ajuste não significativo (teste F,  $p > 0.05$ , exemplo na figura 5.2.2-D). As 114 restantes foram classificadas nos cinco tipos de classes aqui descritos: a classe "supressão" foi a mais prevalente, com 86/114 unidades (exemplo na figura 5.2.1-B unidade 1), seguida das classes "sem supressão" com 11/114

células (exemplo na figura 5.2.1-B unidade 2) e a "sem platô" com 10/114 (exemplo na figura 5.2.1-B unidade 3), todas incluídas na análise populacional (107/114). Ainda contabilizando dentre as 114 células, as excluídas da análise populacional tiveram baixa prevalência, sendo 4 do tipo representado na figura 5.2.2-B, cujo perfil se assemelha a um decaimento exponencial, e apenas 3 como a exemplificada na figura 5.2.2-C.

Como a curva de ajuste representa bem nossos dados, optamos por extrair dela os parâmetros da resposta de nossa análise. Assim, o CRC foi definido como o pico da curva da resposta ajustada. A figura 5.2.4-A mostra a distribuição dos valores de CRC encontrados nas três classes de resposta, cuja mediana foi igual a  $2.17^\circ$ . Os valores do tamanho de CRC foram maiores para as células "sem supressão". Embora com menor intensidade, as unidades "sem platô" também apresentam uma tendência a terem seus CRCs maiores. Em nossa análise, o índice de supressão (IS) gerada pelo contorno é estimado pela razão entre a atividade máxima e a resposta assintótica após este pico (platô), segundo a equação:

$$IS = 100 \left( 1 - \frac{\text{atividade no platô}}{\text{atividade no pico}} \right)$$

sendo o tamanho de CREC determinado pelo ponto a 95% desta supressão. De acordo com nossos dados, há uma forte correlação positiva entre o tamanho do centro e o do contorno (apresentados a seguir). Assim, os CRCs maiores do grupo "sem platô" acompanham esta tendência, pois seus CRECs foram grandes a ponto de não terem sido estimados com nossos maiores estímulos.

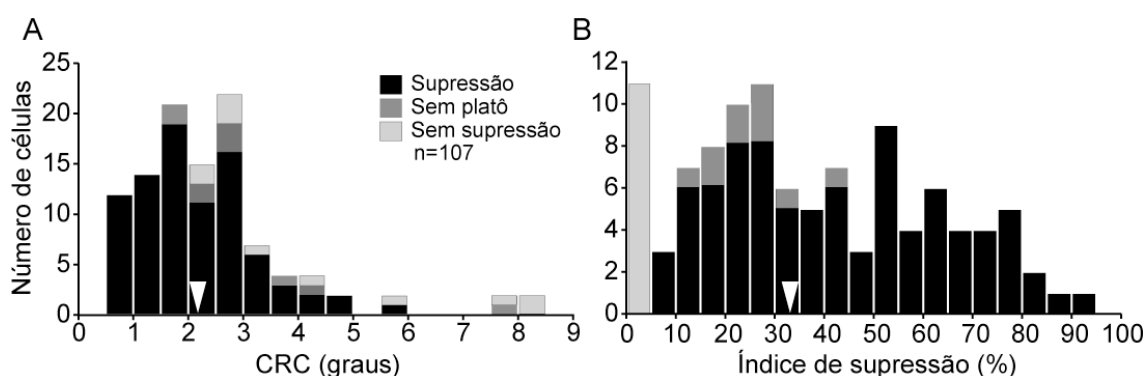


FIGURA 5.2.4: Distribuição do tamanho de CRC (A) e do índice de supressão (B) de acordo com a classificação do perfil de resposta. As setas brancas apontam a mediana, que foi igual a  $2.17^\circ$  para CRC e 33.04% para IS. Tamanho do bin do histograma em A igual a  $0.5^\circ$  e em B igual a 5%.

O índice de supressão para o grupo "sem platô" foi calculado a partir de seu ponto mínimo, visto que as células deste tipo não alcançam uma assíntota. A figura 5.2.4-B mostra a distribuição deste índice para a população. Ainda, as unidades "sem platô" apresentam valores em sua maioria menores que a mediana de 33.04%. Possivelmente, caso houvéssimos utilizado tamanhos maiores de estímulo estas unidades passariam a ser classificadas como "supressão", cujos valores de IS estão amplamente distribuídos.

Ao analisarmos os perfis de ajuste célula por célula, constatamos que os tamanhos menores de CRC eram encontrados em unidades cuja atividade aumentava bruscamente entre os primeiros pontos da resposta, assim como exemplificado na figura 5.2.1-B unidade 1. Conseqüentemente, nos perguntamos se haveria uma relação entre atividade e tamanho de CRC. A figura 5.2.5 mostra que não há uma correlação significativa entre a atividade em CRC e seu tamanho, avaliando as três classes de perfis de resposta. A mesma avaliação somente para as células do grupo "supressão" foi igualmente não significativa.

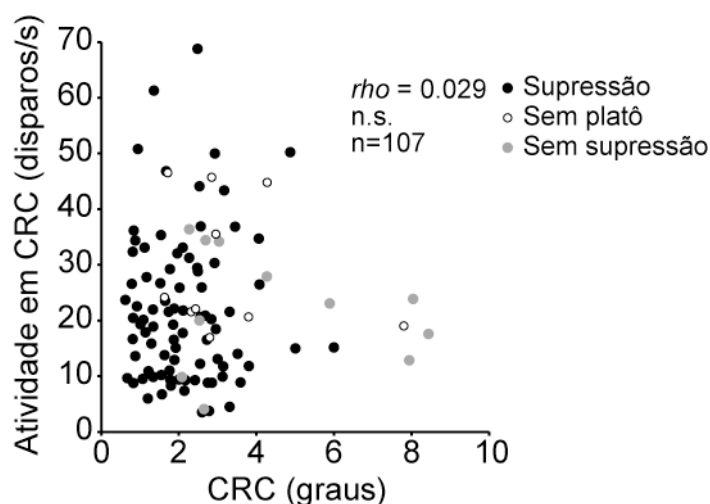


FIGURA 5.2.5: Correlação entre a atividade em CRC e seu tamanho para as três classes de curva de ajuste (n.s.= não significativo).

Os valores do tamanho de CRC apresentados até o momento são provenientes do pico de atividade da curva de somação espacial obtida pelo modelo DoG. É importante, porém, demonstrar a correspondência entre os valores encontrados com o ajuste e os dados brutos experimentais.

As figuras 5.2.6-A e B mostram dois perfis de resposta pertencentes à classe "supressão". Nelas podemos ver a diferença entre o tamanho de CRC obtido pelo ajuste (seta cinza) em contraste com o obtido pelo dado bruto (seta

preta). Em A, o tamanho estimado de CRC bruto é menor que o CRC ajustado. Em B, a relação foi oposta, ou seja, o tamanho do CRC bruto foi maior. Estas duas unidades estão destacadas no gráfico Bland-Altman em C, onde foram casos extremos da população de células do grupo "supressão", posicionadas fora do limite de mais ou menos dois desvios padrão da média da diferença entre CRC ajustado e bruto. Este gráfico evidencia a pequena diferença entre os dois métodos de estimação destas variáveis.

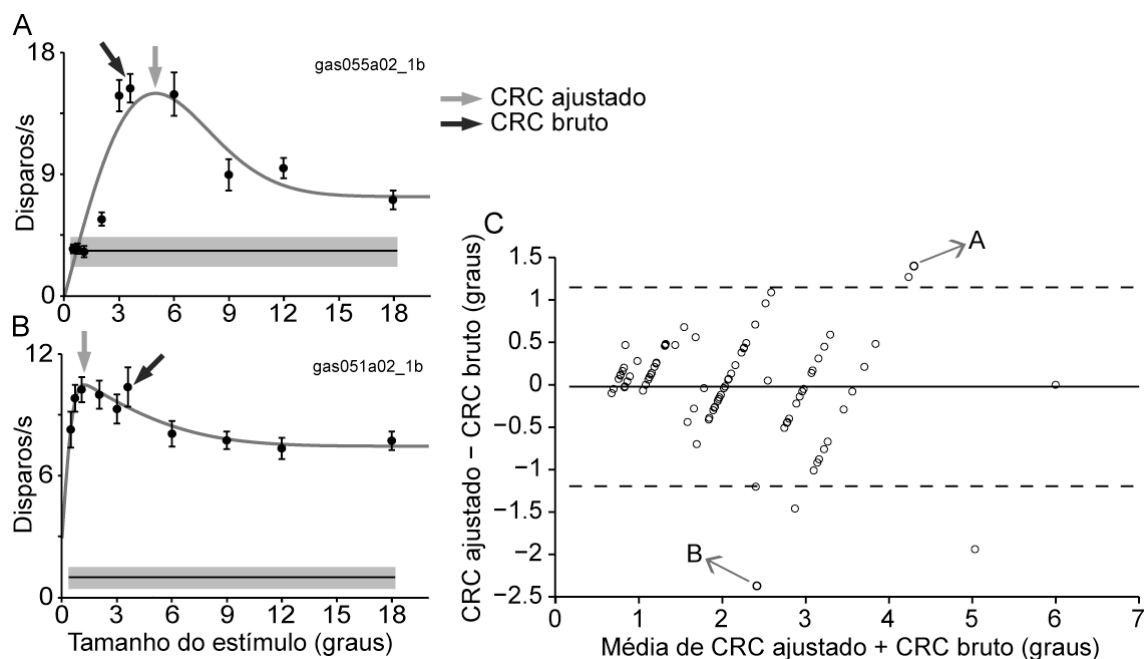


FIGURA 5.2.6: Comparação entre os tamanhos de CRC ajustado e CRC bruto. (A-B) Curvas de resposta ao aumento de tamanho do estímulo cujo tamanho de CRC ajustado e bruto não coincidem. Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que a linha cinza contínua junto aos pontos é resultante do ajuste com o modelo DoG. As barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade. As setas apontam os pontos considerados CRC ajustado (cinza claro) e bruto (preto). (C) Gráfico Bland-Altman mostrando a diferença entre os tamanhos de CRC ajustado e bruto das células do grupo "supressão" ( $n=86$ ). A linha contínua marca a média da diferença, enquanto as linhas pontilhadas marcam a média da diferença  $\pm$  dois desvios padrões. As setas apontam a posição das unidades representadas em A e B no gráfico.

Assim como os tamanhos de CRC, o índice de supressão (IS) variou com os dois métodos de estimação, ajustado e bruto. O IS ajustado baseia-se na diferença entre o pico da curva de ajuste e seu platô. Já o IS bruto é calculado sobre a diferença entre a atividade máxima e a atividade mínima após a máxima, representada por pontos experimentais. A figura 5.2.7-A mostra um exemplo de curva de somação espacial onde é fácil perceber a diferença entre os valores utilizados para o cálculo de IS ajustado e bruto. Esta unidade, cuja diferença entre os índices é relativamente pequena, é o caso onde há maior discrepância entre a estimação baseada em dados ajustados e

brutos dentre as células classificadas no grupo "supressão", como destacado na figura 5.2.7-B. De maneira semelhante à análise de CRC, o gráfico Bland-Altman mostra a diferença entre os valores de IS destas estimações com relação a sua média, destacando a média da diferença (linha contínua) mais ou menos dois desvios padrões (linhas pontilhadas).

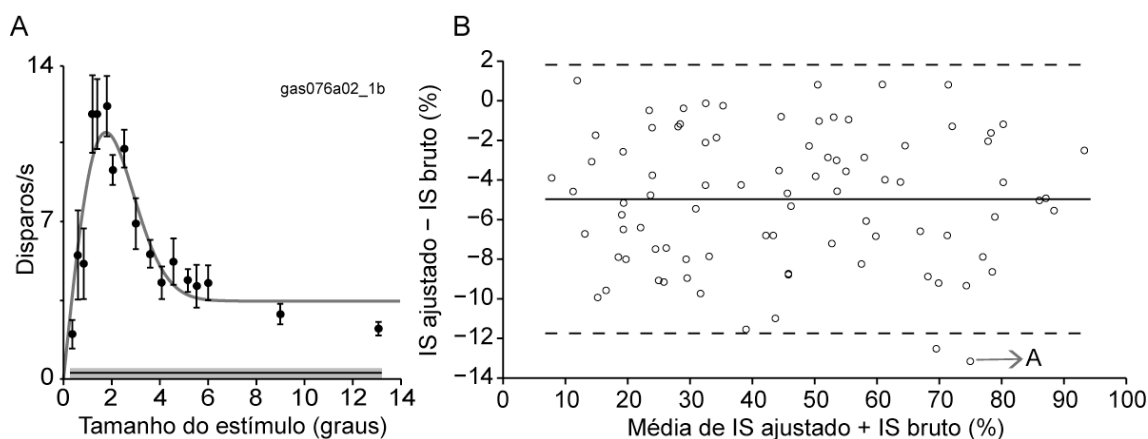


FIGURA 5.2.7: Comparação entre os índices de supressão (IS) obtidos em dados ajustados e brutos. (A) Curva de resposta ao aumento de tamanho do estímulo cujo IS ajustado e bruto são diferentes. Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que a linha cinza contínua junto aos pontos é resultante do ajuste com o modelo DoG. A barra cinza marca a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade. (B) Gráfico Bland-Altman mostrando a diferença entre os valores de IS ajustado e bruto das células do grupo "supressão" ( $n=86$ ). A linha contínua marca a média da diferença, enquanto as linhas pontilhadas marcam a média da diferença  $\pm$  dois desvios padrões. A seta aponta a posição da unidade representada em A no gráfico.

O tamanho de CREC, calculado exclusivamente através da curva de ajuste do modelo DoG, foi considerado como sendo o ponto após o pico cuja atividade equivale a 5% do valor da assíntota. Logo, este cálculo foi efetuado somente para as células do grupo "supressão". A figura 5.2.8 mostra uma avaliação dos tamanhos de CRC e CREC para as unidades pertencentes a este grupo. Nela, devido à ausência das classes cujos campos receptivos eram maiores, a distribuição dos tamanhos de CRC se mostrou diferente se comparada à encontrada para as três classes juntas, na figura 5.2.4 (medianas de  $1.94^\circ$  e  $2.17^\circ$ , respectivamente). O tamanho de CREC apresentou uma ampla distribuição, cuja mediana foi igual a  $7.84^\circ$ . Foi observada uma correlação entre os tamanhos de CRC e de CREC, como pode ser visualizado na figura 5.2.8. Observando a distribuição dos pontos, notamos um aumento da dispersão dos valores para os tamanhos maiores. O coeficiente de regressão  $m$  nos dá uma estimativa da relação entre ambos os tamanhos. De fato, o histograma da distribuição da razão entre CREC e CRC evidencia que o

tamanho de CREC é no mínimo duas vezes maior do que o de CRC, sendo a mediana desta relação igual a 3.78.

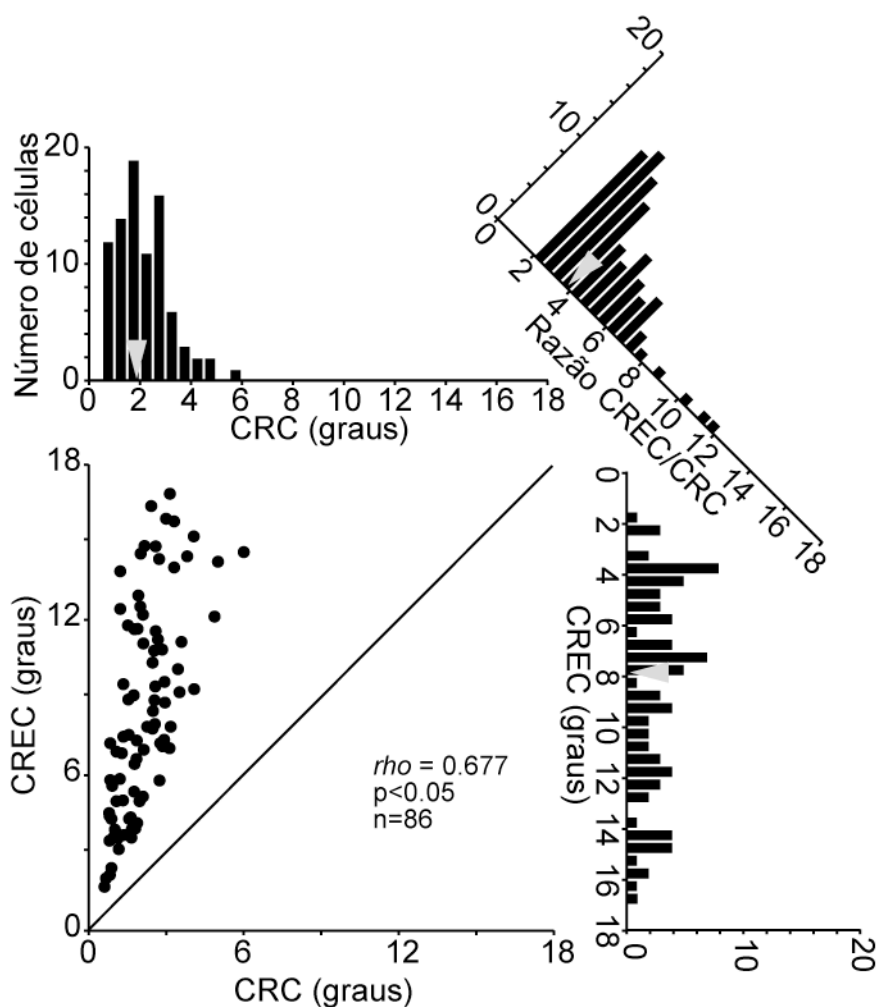


FIGURA 5.2.8: Avaliação dos tamanhos de CRC, CREC e sua relação para as células do grupo "supressão". A linha preta no gráfico de correlação marca a relação 1:1. A mediana da distribuição de CRC foi de  $1.94^\circ$ , enquanto a de CREC foi de  $7.84^\circ$  e da razão entre CREC e CRC igual a 3.78. Tamanho do bin dos histogramas igual a  $0.5^\circ$ .

Uma vez que conhecemos os tamanhos do centro e do contorno do campo receptivo clássico, nos perguntamos se a extensão destas áreas estaria relacionada à supressão da atividade quando ambos são estimulados. A figura 5.2.9-A mostra a relação entre o índice de supressão e o tamanho de CRC de células do grupo "supressão". Embora a correlação entre estas variáveis seja negativa e fraca, apresentou significância estatística. Na figura 5.2.9-B, o tamanho de CREC das mesmas unidades não apresentou uma correlação significativa com o índice de supressão. A figura mostra uma grande dispersão dos valores relacionada às amplas distribuições de ambas as variáveis (figuras 5.2.4 e 5.2.8). Porém, uma correlação mais forte foi obtida entre o índice de supressão e a razão CREC/CRC. Inicialmente podemos observar que para

valores menores desta razão, IS é menor, inclusive com pontos pouco dispersos nesta região. Este fato, associado ao resultado do gráfico em A e ao grande tamanho de CRC para células sem supressão (histograma 5.2.4-A), nos permite observar a tendência de que quanto maior o campo receptivo clássico, menor a supressão que ele sofrerá pela estimulação de seu contorno. Além disso, a figura 5.2.9 evidencia que independente do quão grande seja CREC, a supressão está associada à proporção dos tamanhos das áreas do centro e do contorno.

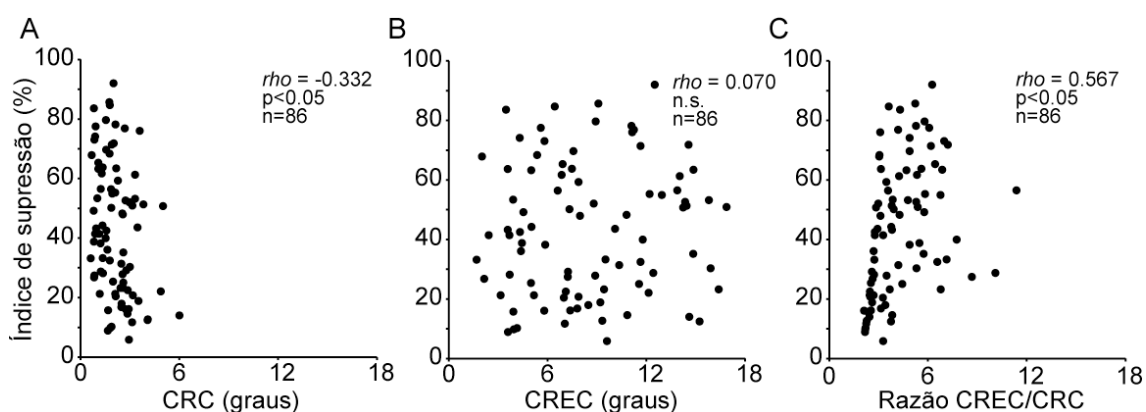


FIGURA 5.2.9: Associação do índice de supressão com a extensão de CRC, CREC e a razão CREC/CRC, calculados a partir do modelo de ajuste para células do grupo "supressão" (n=86).

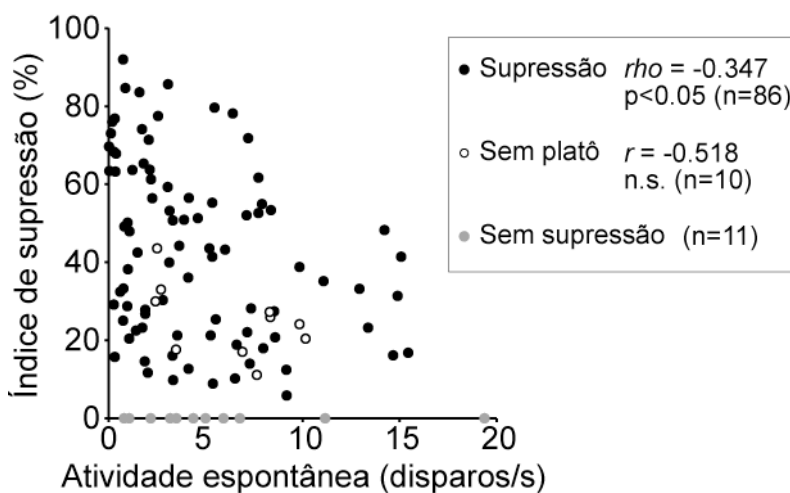


FIGURA 5.2.10: Relação entre o índice de supressão e a atividade espontânea dividida por classes de perfil de resposta ao tamanho.

O fato do índice de supressão estar relacionado ao tamanho relativo das áreas estimuladas não nos diz se o mesmo ocorre para a atividade basal da célula. A figura 5.2.10 mostra a relação de IS com a atividade espontânea, dividida pelas classes de perfil de resposta ao tamanho do estímulo. Embora os dados estejam bem dispersos, há uma correlação negativa significativa envolvendo estas variáveis para as células do grupo "supressão", embora o

mesmo não seja observado para o grupo "sem platô". A mesma avaliação não pode ser feita para células "sem supressão", visto que seu IS é zero. Logo, percebemos uma leve tendência de células que apresentam uma atividade basal maior apresentarem menor supressão proveniente da estimulação concomitante do centro e contorno.

A verificação da presença de resposta induzida pela estimulação do contorno somente, utilizando a grade senoidal anular, baseou-se em 38 unidades. Como não utilizamos um modelo matemático para ajustar as curvas destes dados, optamos por não comparar suas respostas às obtidas pelo ajuste com o modelo DoG do protocolo G, visto que, conforme aqui demonstrado, é grande a correspondência entre dados brutos e ajustados. Assim, descrevemos a presença de determinadas características, podendo uma mesma célula apresentar uma ou mais delas, sem a classificação dos tipos de resposta, como feito para as curvas de ajuste. A figura 5.2.11 mostra alguns exemplos de curvas de resposta que representam bem nossos dados. Em A, a curva de somação espacial (círculos pretos), correspondente ao protocolo G, tem sua resposta aumentada até alcançar um pico, seguido de supressão, como previamente descrita. A curva de resposta ao aumento do diâmetro interno do anel (círculos brancos) apresentou atividade maior do que a proveniente do estímulo circular (*patch*), quando somente uma pequena parte central de CRC não estava sendo estimulada. À medida que o estímulo descobria CRC, a resposta diminuía a níveis similares aos da atividade espontânea. Em outras unidades com perfil semelhante (25/38), as curvas se cruzaram antes de alcançar o tamanho de CRC. Os maiores valores observados para a curva do anel têm atividade comparável aos maiores níveis de supressão da curva G, ou seja, ao menor valor após o pico de somação espacial (mínimo de G). A diferença entre estes estímulos é somente a pequena parte central de CRC. Esta curva, que representa a maior parte dos dados obtidos com o protocolo utilizando o anel, evidencia que a estimulação do contorno, definido como a área que circunda o centro definido pela curva de somação espacial, não induz resposta. Porém, encontramos algumas variações deste perfil. A figura 5.2.11-B mostra que a curva em resposta ao anel inicia com valores semelhantes à curva do protocolo G, observado em 2/38 unidades. É conhecida a heterogeneidade de distribuição das subunidades excitatórias e inibitórias em campos receptivos visuais (DeAngelis



*et al.*, 1994; Petrov e McKee, 2006; Serrano-Pedraza *et al.*, 2011). É possível que neste caso, a pequena parte central de CRC tenha uma força excitatória que sobressaia ao restante do campo. Ainda, a resposta ao anel cujo diâmetro interno é igual a CRC, chamado aqui de anel de CRC, apresenta uma atividade significativamente maior que a atividade espontânea. A distância entre o anel de CRC e o primeiro ponto em que o intervalo de confiança da resposta se sobrepõe ao da atividade espontânea (MASE, de "menor anel semelhante à espontânea") é chamado de zona incerta. A presença desta área significa que a resposta celular depende da combinação de influências excitatórias do centro e supressivas do contorno, sendo o balanço destas forças o determinante da resposta final. Esta região foi igualmente observada em neurônios de V1 de macacos (Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a).

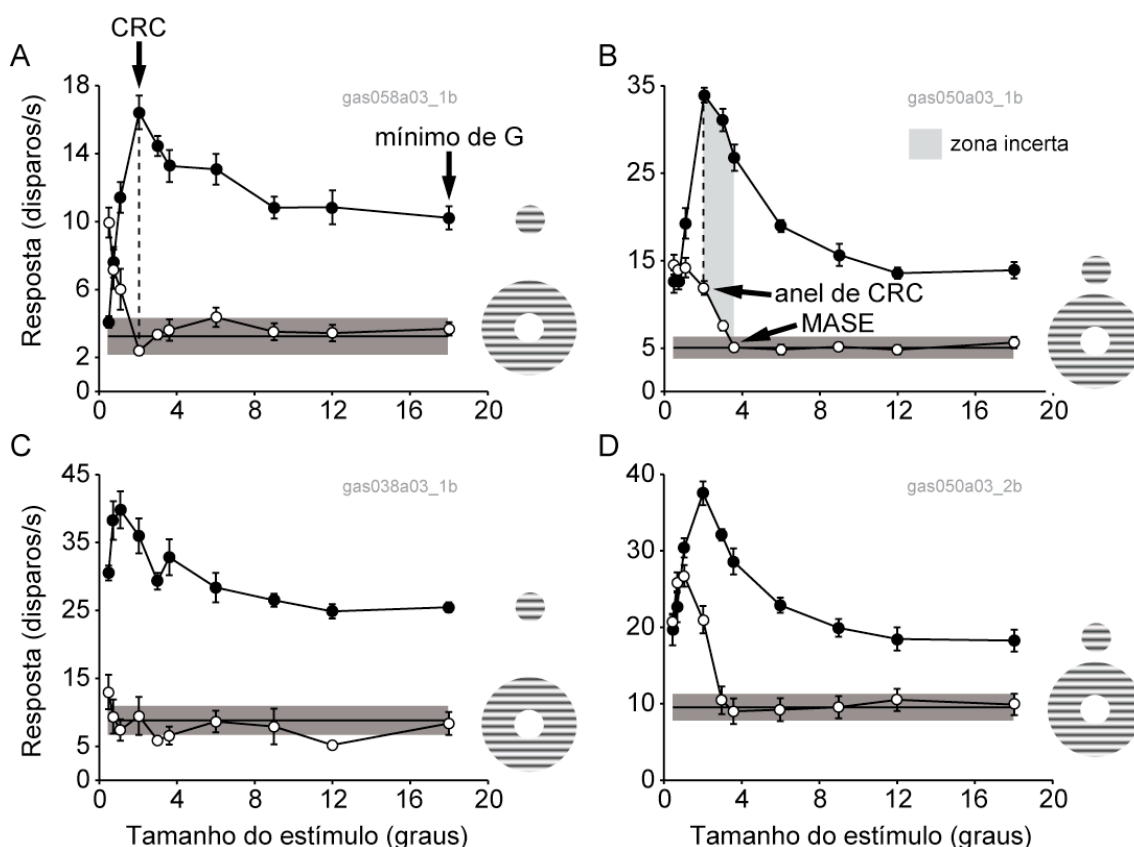


FIGURA 5.2.11: Exemplos de curvas de resposta ao aumento do diâmetro interno da grade senoidal anular (círculos brancos), com suas curvas complementares de somação espacial (círculos pretos). (A e B) As linhas pontilhadas ligam CRC (campo receptivo clássico) e o anel de CRC, ou seja, o estímulo complementar ao pico de somação espacial. MASE (de "menor anel semelhante à espontânea") marca o primeiro ponto da curva em resposta ao anel em que o intervalo de confiança da resposta se sobrepõe ao intervalo de confiança da atividade espontânea. A área entre o anel de CRC e MASE, em cinza claro, é considerada a zona incerta. Mínimo de G significa a atividade mínima da curva obtida com o protocolo G. (A-D) Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que as barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade.

Para um terço das unidades registradas (13/38), as curvas em resposta ao anel e ao círculo não se cruzaram, como exemplificado na figura 5.2.11-C. A unidade nela representada apresenta uma resposta contrária a em B, ou seja, nem mesmo quando o anel estimula parte de CRC a resposta é diferente dos níveis da atividade espontânea. Acreditamos que a contribuição excitatória da pequena parte central de CRC, neste caso, é ainda maior do que em B, quando a origem das curvas era praticamente a mesma. Em cerca de 8% de nosso conjunto de dados (3/38), a resposta inicial ao anel aumenta até níveis maiores que a maior supressão observada na curva em resposta ao círculo, seguida de uma queda que a leva a níveis semelhantes ao da atividade espontânea, como na figura 5.2.11-D. Este aumento, entre o primeiro e o segundo ou terceiro diâmetros foi significativo (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ), alcançando um pico enquanto o anel ainda cobria parte de CRC. Além disto, esta unidade também apresentou uma zona incerta, ou seja, atividade no anel de CRC. A presença de uma maior excitação perto da borda de CRC, acompanhada de inibição na pequena parte do centro, poderia explicar tal perfil, ainda considerando que esta maior excitação periférica pode estar associada à presença da zona incerta.

Em 94.7% (36/38) das unidades registradas, observamos que o estímulo circular cobrindo CRC induziu uma resposta maior (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) do que o anel com diâmetro interno de mesmo tamanho (linha pontilhada na figura 5.2.11), enquanto as duas células remanescentes não apresentaram diferença estatisticamente significante. O histograma A da figura 5.2.12 representa o valor absoluto da atividade quando CRC está coberto pelo estímulo circular menos a atividade com o anel de diâmetro interno igual a CRC (anel de CRC). A linha pontilhada marca o zero e evidencia a relação entre estas duas variáveis, a qual CRC é sempre maior que o anel de CRC. Além disso, ao compararmos a atividade do anel de CRC com a atividade mínima de resposta ao protocolo G (histograma B figura 5.2.12), vemos que o primeiro é significativamente maior para somente 2/38 unidades, o que não ocorreu para diâmetros internos maiores do anel. Em 27/38 unidades a atividade do anel foi significativamente menor que o mínimo de G, sendo que em 9/38 não houve diferença estatística (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ).

Na estimulação com anel de CRC, 28/38 das células apresentaram atividade semelhante ou menor que a atividade espontânea, considerada como

o segundo que precedia a apresentação do estímulo. Este cálculo foi feito utilizando como base a sobreposição dos respectivos intervalos de confiança. Para diâmetros internos do anel maiores que CRC, somente quatro células apresentaram taxa de disparo maior que a atividade espontânea, mesmo assim para até dois tamanhos subsequentes de estímulo. O histograma C da figura 5.2.12 representa a diferença entre a atividade espontânea média da célula e a resposta média ao anel de diâmetro interno do tamanho de CRC, evidenciando sua proximidade quantitativa até mesmo para valores médios. Já o histograma D mostra a diferença, em graus, entre o tamanho de CRC e o menor diâmetro interno do anel a apresentar atividade semelhante à atividade espontânea (MASE), utilizando a sobreposição de intervalos de confiança como método. Os valores negativos englobam as unidades em que a resposta ao anel foi semelhante à atividade espontânea desde o primeiro estímulo, como representado na figura 5.2.11-C.

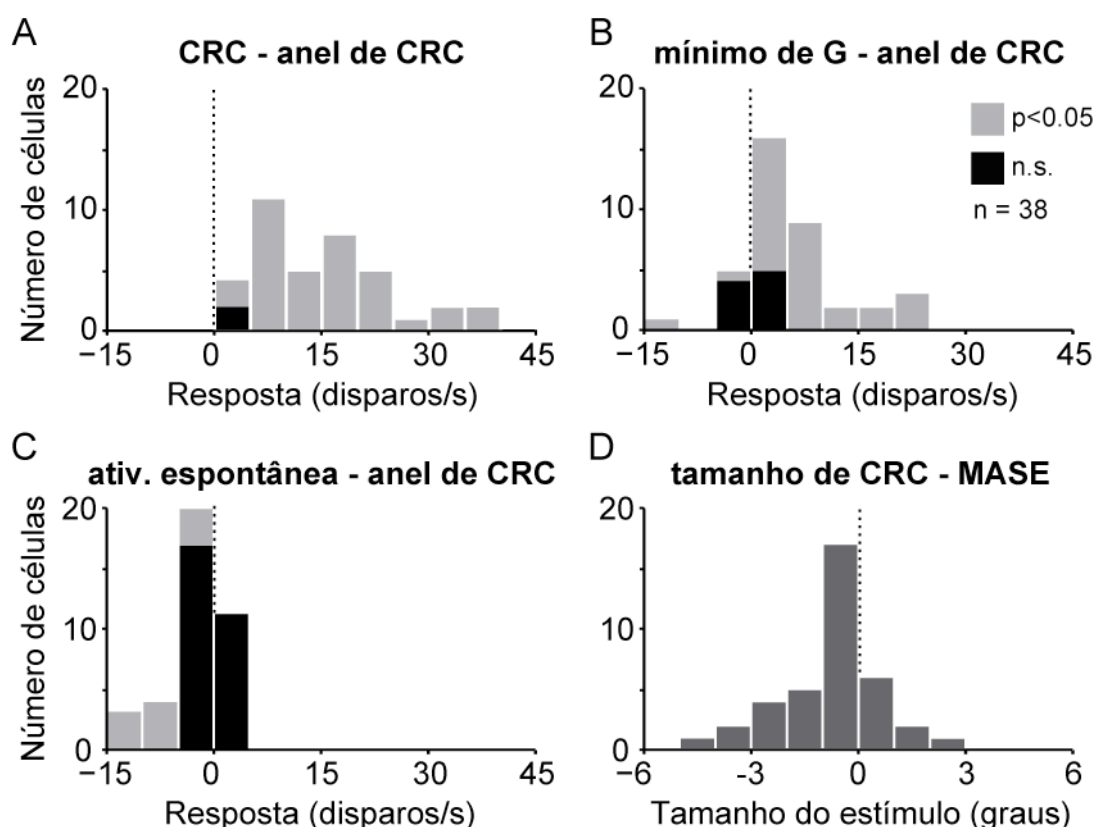


FIGURA 5.2.12: Histograma representando diferenças entre diferentes parâmetros: (A) atividade média em CRC menos a atividade média no anel de CRC; (B) menor atividade média após o pico da curva de somação espacial menos a atividade média no anel de CRC; (C) atividade espontânea média menos a atividade média no anel de CRC; (D) tamanho de CRC menos o menor diâmetro interno do anel cuja atividade foi semelhante à atividade espontânea (MASE). As linhas pontilhadas marcam o zero. Barras em cinza claro representam células em que as variáveis foram significativamente diferentes, enquanto barras pretas não apresentam significância (em D não há tal relação, sendo suas barras cinza escuro). (A-B) Wilcoxon; (C-D) método de sobreposição de intervalos de confiança (ver metodologia). (A-C) Tamanho de bin igual a 5 disparos/s; (D) tamanho de bin igual a 1 grau.

Como utilizamos estímulos cujo diâmetro externo foi sempre consideravelmente maior que CRC, se compararmos a resposta ao anel de diferentes tamanhos em diferentes células, é importante considerar o tamanho da área do campo receptivo clássico que foi estimulada. A figura 5.2.13 mostra a relação entre a porcentagem coberta de CRC e a atividade relativa a CRC. Em A, estão os resultados para as curvas de somação espacial, onde podemos ver um aumento da atividade à medida em que o estímulo cobre a área do campo receptivo clássico. O número de elementos neste gráfico é igual ao número de estímulos iguais ou menores ao CRC da célula. Conseqüentemente, em A há a sobreposição de 38 pontos (tamanho da amostra) quando os valores de ambos os eixos são iguais a 100, devido ao fato dos resultados serem relativos ao tamanho de CRC e a sua atividade máxima. De maneira semelhante, a figura 5.2.13-B representa a área de CRC coberta pelo estímulo anular, concomitante com a estimulação do contorno. O gráfico mostra as respostas aos estímulos que ainda cobriam CRC, nunca além disso (estimulação de CREC somente). É importante ressaltar que o estímulo anular nunca cobre completamente o espaço de CRC, pois sua pequena área central fica descoberta. Além disso, vale salientar que a variação da atividade quando o estímulo cobre 0% do campo, ou seja, a atividade do anel de CRC, tem embutida em seu valor a atividade espontânea. Se comparado ao gráfico A, o gráfico B mostra um aumento da dispersão dos dados. Isto é confirmado pela diferença de seus coeficientes de correlação, o qual para o estímulo circular é igual a 0.8518, enquanto para o estímulo anular é 0.4729. A compreensão de tamanha diferença não deve levar em consideração somente a presença do contorno, mas também a importância da estimulação da pequena parte central de CRC.

O fato de termos registrado o protocolo G junto com o anel, formando o protocolo GA, assim como em conjunto com estímulos com 10% de contraste, formando o protocolo Gcont, nos levou a obter, para algumas células, dois registros do protocolo G separados pelo período de duração de um protocolo (em média 30 min.). Assim, resolvemos comparar as respostas obtidas afim de avaliar a estabilidade das curvas de seletividade ao tamanho. Para isso, fizemos uma comparação de ambas as curvas a partir de dados ajustados, assim como entre os dados brutos.

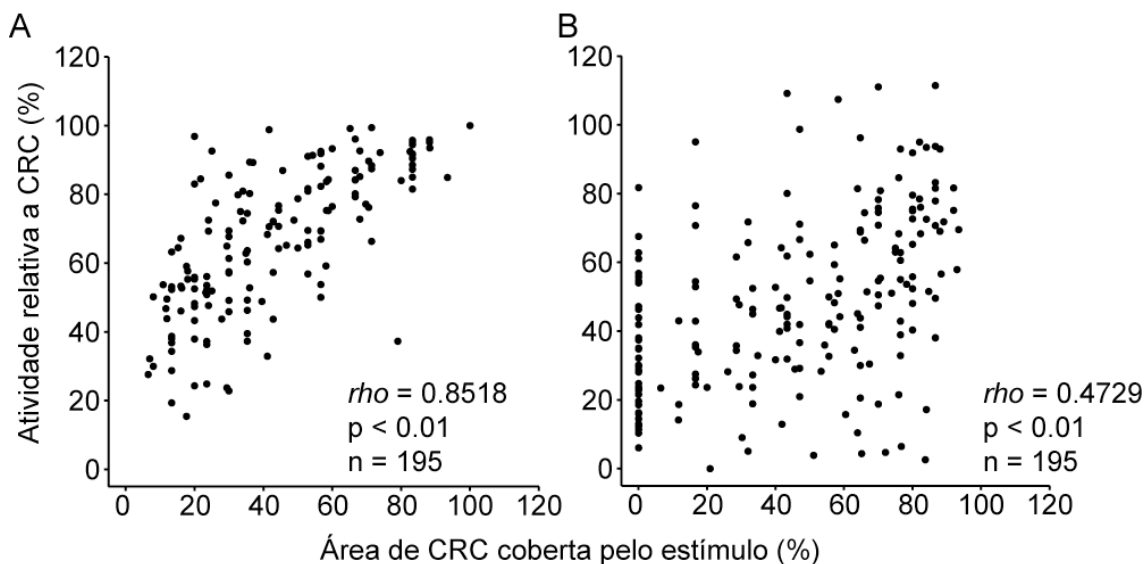


FIGURA 5.2.13: Gráficos mostrando a relação entre a atividade relativa à área coberta de CRC e a área coberta de CRC, utilizando o estímulo circular do protocolo G (A) e o estímulo anular (B), quando somente a pequena parte central do campo nunca é estimulada. Os valores mostrados são somente para as respostas aos tamanhos de estímulo menores que CRC. Como a área de CRC foi considerada 100%, em A há 38 (tamanho da amostra) pontos superpostos, quando ambos os eixos são iguais a 100.

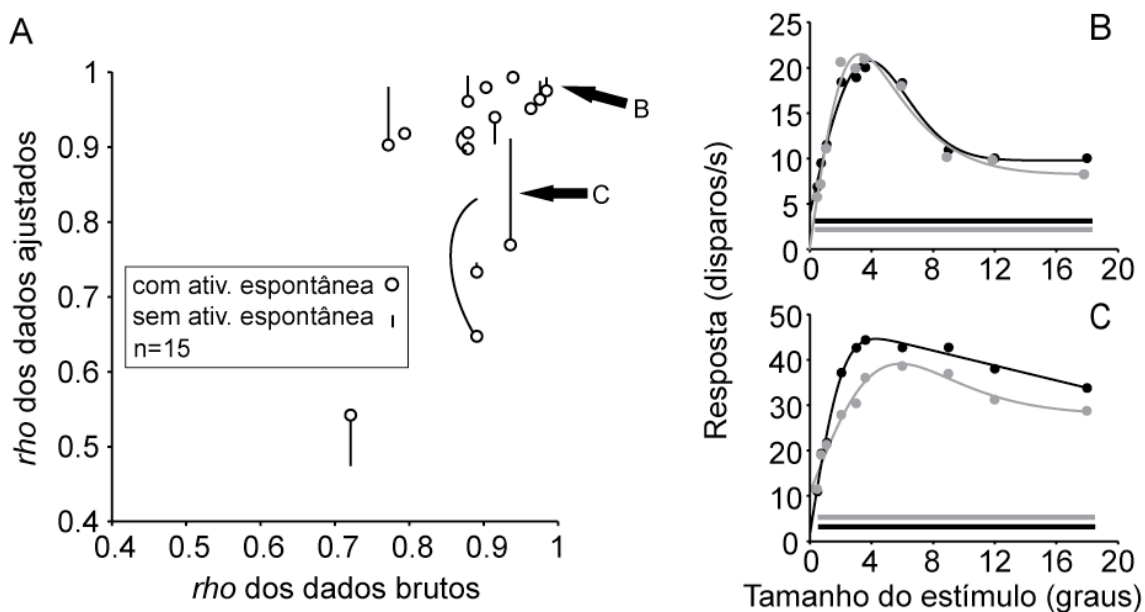


FIGURA 5.2.14: (A) Gráfico mostrando a relação entre os coeficientes da correlação entre as médias de duas curvas de resposta, uma bruta e outra ajustada, de uma mesma célula em momentos diferentes. Os valores são mostrados com (círculos brancos) e sem (ponto no fim da reta) atividade espontânea. As setas indicam a posição no gráfico das unidades B e C. (B-C) Curvas de soma espacial registradas em diferentes momentos para uma mesma célula. Os pontos representam média e a linha que os interliga é resultante do ajuste com o modelo DoG. As linhas paralelas à abscissa marcam a atividade espontânea.

A figura 5.2.14-A ilustra a relação entre os coeficientes de correlação ( $p < 0.05$ ) das médias dos dados brutos com as curvas obtidas a partir do modelo DoG. Como uma provável causa da variação ao longo do tempo poderia ser a atividade espontânea, a avaliação foi feita mantendo-a (círculos

brancos) e subtraindo-a (ponto ao final da linha). No geral, foi observada uma variação muito pequena ao longo do tempo, principalmente avaliando os dados brutos. Os dados ajustados foram penalizados pelas limitações inerentes ao modelo, já discutidas nesta tese. A figura 5.2.14-B mostra um exemplo de duas curvas de somação espacial de uma mesma unidade em tempos diferentes. Este é um exemplo da manutenção de um mesmo perfil em momentos distintos. Já em C, houve uma variação considerável, que inclusive chega a mudar o tipo de curva resultante do ajuste (classes "supressão" e "sem platô"). Devido ao fato de registrarmos extracelularmente em animais acordados, consideramos que esta variação, pequena na maior parte dos dados, reforça a presença de estabilidade de nossos experimentos.

### 5.3. Discussão

Nosso trabalho mostra, pela primeira vez, a presença de modulação centro-contorno em neurônios do wulst visual de corujas. Evidências preliminares da ocorrência de tal efeito datam dos achados de Pettigrew (1979) registrando nesta mesma área. Ele demonstrou a presença de algumas células com inibição de borda (*end-stopped*) de ambos os tipos, única e dupla, ou seja, com inibição em um ou dois lados. Segundo nossos resultados, a maior parte dos neurônios do wulst visual (100/114) pode ser suprimida se estimularmos ambos centro e contorno na orientação e direção preferida. Através do modelo de diferença de Gaussianas, que ajustou bem nossos dados, extraímos parâmetros da resposta que se correlacionaram fortemente com os mesmos parâmetros brutos, na ausência do ajuste. Foi encontrada uma forte relação entre a razão CREC/CRC e o índice de supressão, além da tendência de campos receptivos maiores apresentarem menor supressão. A estimulação de CREC sozinho induziu respostas semelhantes à atividade espontânea. Contudo, em 10/38 unidades foi verificada a presença da zona incerta, uma região do espaço além da borda de CRC que, se estimulada em conjunto com o anel sobre CREC, induz uma resposta maior que a linha de base.

Gostaríamos de apresentar aqui uma comparação dos resultados obtidos em neurônios do wulst visual da coruja com aqueles obtidos no V1 de mamíferos, explorando o paradigma da modulação centro-contorno. Porém, mesmo avaliando somente trabalhos que usaram grades senoidais circulares em movimentos centradas em CRC e com diâmetro crescente, como o nosso,

observamos uma grande variação em dois parâmetros do estímulo cruciais para a estimação do tamanho de CRC: contraste e excentricidade. Porém, podemos dizer que, no geral, o tamanho de CRC, o índice de supressão e a razão CREC/CRC encontrados foram semelhantes aos descritos para neurônios do córtex visual primário de primatas (Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a; Van Den Bergh *et al.*, 2010), mais até do que os obtidos em outros mamíferos, como gatos (Walker *et al.*, 2000), camundongos (Van Den Bergh *et al.*, 2010) e ratos (Girman *et al.*, 1999).

Atualmente são conhecidos diferentes métodos de mapeamento do campo receptivo. O mais clássico estima o campo responsivo mínimo (CRM) utilizando pequenos estímulos de alto contraste piscando ou varrendo a área sobre o campo receptivo (Barlow *et al.*, 1967; De Valois *et al.*, 1985; Knierim e Van Essen, 1992; Sengpiel *et al.*, 1997; Walker *et al.*, 2000; Cavanaugh *et al.*, 2002a; Angelucci e Bullier, 2003). Nós inicialmente utilizamos o mapeamento CRM para localizar CRC no campo visual e encontrar seu centro. Porém, podemos afirmar que as medidas obtidas pelo mapeamento CRM acerca do tamanho do campo receptivo clássico foram menores do que as encontradas pela curva de somação espacial, mesmo não realizando uma análise quantitativa. Este comportamento tem sido igualmente demonstrado por diversos autores em neurônios do córtex visual de gatos e macacos (Walker *et al.*, 2000; Cavanaugh *et al.*, 2002a; Angelucci e Bullier, 2003; De Valois *et al.*, 1985). Visando evitar a superposição da estimulação do contorno sobre o centro, a qual poderia ocorrer com o método CRM, escolhemos considerar o pico da curva de somação espacial como o tamanho de CRC. Alguns autores ocasionalmente optaram por aumentar ligeiramente o diâmetro do centro para eliminar respostas residuais do contorno (Levitt e Lund, 1997; Sengpiel *et al.*, 1997; Bair *et al.*, 2003). Todavia, observamos algumas unidades cuja atividade nos fez questionar sobre a estimulação inapropriada das distintas regiões espaciais e quando grandes irregularidades no formato do campo receptivo seriam as responsáveis por tal atividade. Consideramos que para melhor compreender o fenômeno, trabalhos futuros explorando a modulação centro-contorno devem considerar o uso de métodos de mapeamento que podem fornecer também informações sobre o formato do campo receptivo, como o método de correlação reversa (Ringach, 2004).

Dentre os diversos modelos utilizados em neurociência da visão, o que tem sido mais usado em estudos sobre a modulação centro-contorno é o da diferença de Gaussianas (DoG). Este modelo mostrou-se adequado na representação de respostas de neurônios do wulst visual, tanto quanto para os neurônios de V1. A estimação das contribuições de centro e contorno baseadas em parâmetros do modelo DoG superam as limitações da estimação empírica direta, além de permitir uma comparação sistemática com parâmetros de modelos teóricos da função neuronal (Sceniak *et al.*, 2001). Não houve uma preocupação de nossa parte em testar outros modelos aplicáveis a este paradigma, como o de normalização divisiva (modelo RoG, Cavanaugh *et al.*, 2002a), uma vez que foi demonstrada a semelhança quantitativa entre a extensão excitatória e inibitória entre ele e o DoG (Sceniak *et al.*, 2001). Porém, utilizamos adaptações deste último, para o ajuste de curvas de unidades sem supressão, através do uso de somente uma Gaussiana excitatória. Adaptações como esta já foram relatadas na literatura, inclusive de maneira inversa: ao invés de retirar uma Gaussiana, houve a adição de uma terceira, visando o melhor ajuste de curvas com contra-supressão excitatória, ou seja, um aumento da resposta após atingir o que consideramos aqui como platô (Wang *et al.*, 2009). Este tipo de atividade, observada em neurônios da área 17 de gatos envolvendo a diminuição da supressão sob a estimulação de áreas distantes de CRC, não foi encontrada em nossos resultados.

Em nossos dados, vimos que o tamanho de CRC não correlaciona com a atividade em CRC, mas correlaciona com o índice de supressão, mesmo que fracamente. Embora IS dependa da supressão gerada pelo contorno, ele também não está relacionado ao tamanho de CREC, nos levando a crer que o importante para a determinação de sua força não são os tamanhos de centro e contorno individualmente, mas sim a relação entre eles. Tal relação, expressa pela razão CREC/CRC, apresentou uma forte correlação positiva com o índice de supressão. Estas constatações nos mostraram uma tendência da supressão ser maior para campos receptivos menores.

Um conjunto de dados semelhante foi encontrado para neurônios de V1 e V2 de macacos e camundongos (Van Den Bergh *et al.*, 2010), o que levou os autores a concluir que a organização centro-contorno dessas células em ambos os animais é fundamentalmente similar. As diferenças encontradas por eles foi atribuída à quantificação dos tamanhos de CRC e CREC, além do



índice de supressão. Estas foram inicialmente explicadas por organizações distintas da retina: enquanto macacos apresentam uma fóvea, em camundongos esta é rudimentar. As corujas buraqueiras, as quais parecem compartilhar de organização semelhante no que se refere à organização centro-contorno, apresentam uma fóvea em fenda (Castello-Branco *et al.*, 2009).

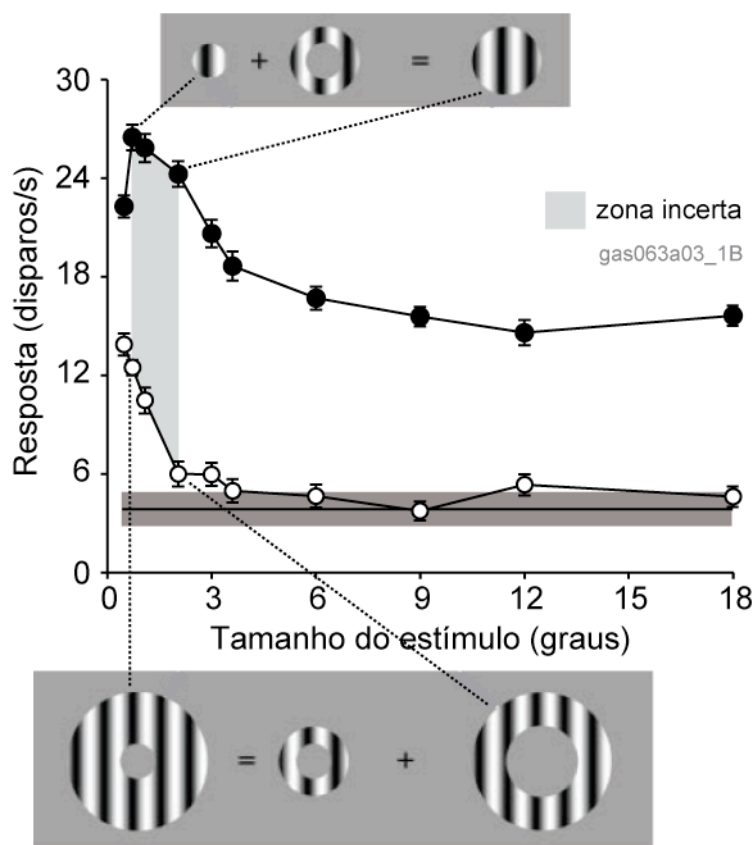


FIGURA 5.3.1: Exemplo de curvas em resposta ao protocolo GA mostrando a presença da zona incerta e a importância funcional do anel de transição. Adaptado de Cavanaugh (2002a).

A presença da zona incerta em nossos dados pode estar associada ao formato do campo receptivo, uma vez que ela pode resultar da superposição da estimulação do contorno sobre o centro. Por outro lado, uma simples heterogeneidade de forças no contorno, assim como já descrito em V1 (Jones *et al.*, 2001), poderia igualmente ser o pivô deste fenômeno. O método de estimação de CRC adotado em nosso trabalho permite a detecção desta zona, ao contrário dos já citados estudos onde os limites do campo são determinados pela ausência de atividade utilizando a estimulação de CREC (Levitt e Lund, 1997; Bair *et al.*, 2003). Assim, outros trabalhos que utilizam o mesmo método

de estimacão de CRC também apresentaram esta região, embora possam t-la chamado por outros nomes. No córtex visual primário de macacos, dois trabalhos relataram sua presença em mais da metade do conjunto de dados (Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a). Em um deles, Cavanaugh e colaboradores (2002a) mostraram que o estímulo que cobre a zona incerta, chamado de anel de transio, se acrescido de estimulao cobrindo o CRC passa a suprimir, passando a excitar se acrescido de um anel cobrindo CREC (figura 5.3.1). Logo, estes autores presumem que as respostas  estimulao de centro e contorno possuem mecanismos independentes. Um estímulo no centro reduz a sensibilidade do centro, permitindo a supressão do contorno dominar no anel de transio. De maneira semelhante, um estímulo no contorno reduz a sensibilidade do contorno, permitindo o centro dominar no anel de transio.

## **6. CAPÍTULO 3: Evolução temporal da modulação contextual**

### **6.1. Apresentação**

A maior parte dos estudos sobre modulação contextual tem focado na estrutura espacial e na seletividade do estímulo, enquanto pouca atenção é dada a seu perfil temporal (Bair *et al.*, 2003). Entretanto, a dinâmica temporal da resposta é importante por conter tanto o circuito subjacente quanto o papel funcional do fenômeno (Knierim e Van Essen, 1992). Como descrito na introdução, ainda não é estabelecida a participação dos diferentes tipos de conexão na modulação centro-contorno. Acredita-se que a compreensão de tal mecanismo é crítica para entendermos como o sistema visual processa padrões e cenas naturais (Vinje e Gallant, 2000).

Visando explorar a dinâmica temporal de nossos dados, analisamos a latência da resposta, assim como a atividade ao longo do tempo. Para isso, utilizamos o método de cálculo de latência baseado em percentis, no qual o início da resposta é considerado como o primeiro ponto maior que 95% da atividade espontânea após dois pontos que tenham ultrapassado 99% da mesma. Os valores de latência foram calculados sobre a resposta média das repetições, ou seja, foi estimado um valor para cada condição do estímulo. No cálculo, a janela de análise foi fixada entre os primeiros 20 ms após o início da estimulação e seus 220 ms.

A análise da supressão no tempo foi feita sobre a resposta média de todas as repetições para uma mesma condição. Inicialmente, o valor da latência foi utilizado para encontrar o início da resposta à estimulação. A partir deste ponto, foi feita uma divisão da resposta em bins de 10 ms. Em seguida, a atividade foi integrada de forma que cada bin de 10 ms fosse a média do bin do tempo de interesse com o anterior. A partir desta atividade avaliamos os tempos 30, 50, 70, 90, 110, 130, 150, 170, 200, 500, 1000 e 1500 ms. Em cada um destes intervalos foi extraída uma curva de resposta ao tamanho posteriormente ajustada com o modelo DoG. O cálculo do índice de supressão foi elaborado de maneira semelhante ao capítulo 2.

### **6.2. Resultados**

Os resultados apresentados aqui foram extraídos somente das células classificadas como complexas, visto que a linearidade da resposta das

células simples poderia gerar erro no cálculo da latência, a qual é pré-requisito para o cálculo de supressão ao longo do tempo. Para fins de comparação, utilizamos somente as células pertencentes à classe de perfil de resposta "supressão", na qual 67/86 unidades foram classificadas como células complexas. Além disso, houve casos em que, no cálculo da latência, o primeiro ponto que alcançasse as exigências dos percentis não foi encontrado dentro do intervalo de tempo 20-220 ms. Assim, adotamos como critério de exclusão o máximo de 25% das condições de uma mesma célula sem estimação da latência. Na prática isso significou que dentre as células que compõem este subgrupo, não há uma com mais de três condições onde este cálculo não pudesse ser feito. Logo, foram excluídas 7/67 unidades baseando-se neste critério, das quais 3/7 eram células simples, conferindo uma população total de 63 células.

Nossos dados mostram que a latência da resposta é maior para pequenos tamanhos de estímulo, diminuindo e se mantendo praticamente constante para tamanhos maiores. A figura 6.2.1 mostra essa relação, assim como seu intervalo de confiança (95%). Inicialmente observamos que os estímulos que induziram uma resposta mais rápida têm um diâmetro próximo ao tamanho de CRC, que é um estímulo otimizado. Porém, fazendo uma avaliação unitária não observamos tal padrão. Foram 5/63 unidades cujo menor valor de latência correspondeu ao tamanho de CRC, sendo que em 2/5 destas células, a mesma latência foi observada para outros tamanhos de estímulo. A variação dos valores do intervalo de confiança está relacionada à variação do tamanho da amostra em cada ponto. Como utilizamos diferentes conjuntos de tamanhos de estímulo, ao agruparmos todos verificamos que determinados diâmetros foram melhor representados que outros. Por exemplo, foram registradas poucas unidades com estimulação de uma grade senoidal de  $14^\circ$ , que na figura é evidenciado pelo aumento de seu intervalo de confiança. Cabe aqui dizer que não encontramos uma relação significativa entre a latência de CRC e o tamanho de CRC, associado talvez ao fato de não termos usado valores provenientes do ajuste com o modelo DoG nesta comparação (tamanhos equivalentes somente aos diâmetros experimentais do estímulo).

Visando verificar se a relação observada entre latência e tamanho do estímulo era dependente do fato de termos utilizado valores absolutos, fizemos uma normalização da primeira. Optamos por demonstrar ambos os

gráficos sobrepostos uma vez que verificamos que os traçados foram semelhantes. Assim, ainda na figura 6.2.1 podemos observar o resultado da sobreposição do valor médio absoluto e normalizado, com seus respectivos intervalos de confiança. A comparação de ambos os gráficos evidencia a diminuição da variação nos valores normalizados devido ao pequeno tamanho amostral, embora ainda presente, assim como uma relação semelhante da latência normalizada com o tamanho do estímulo.

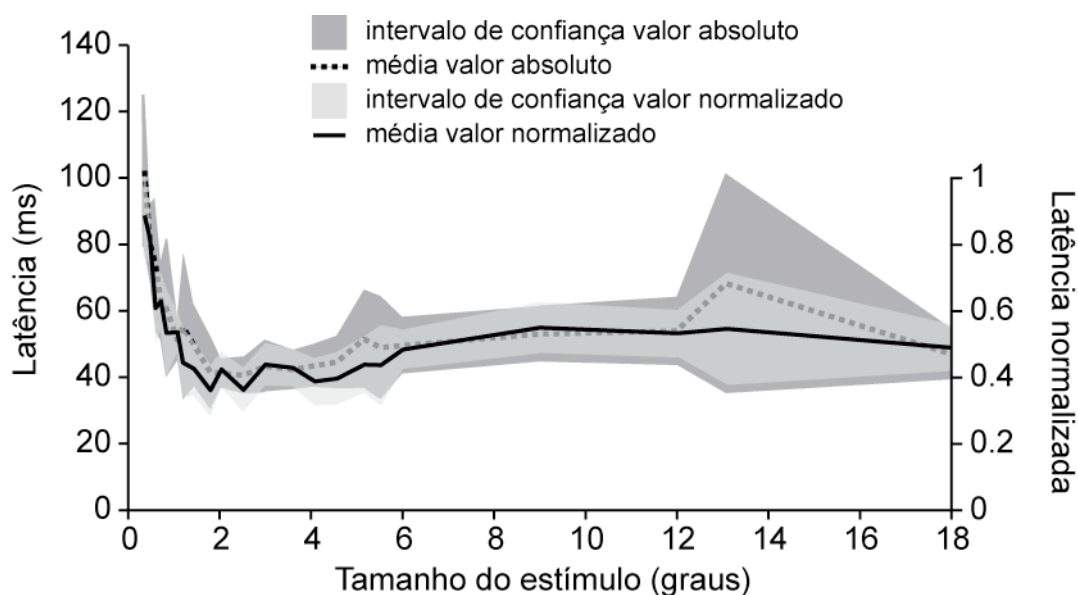


FIGURA 6.2.1: Latência da resposta em função do tamanho do estímulo, demonstrada para valores absolutos (linha pontilhada) e valores normalizados (linha contínua). Os intervalos de confiança (95%) foram representados para os valores absolutos (área cinza escuro) e normalizados (área cinza claro).

A figura 6.2.2 mostra a mesma relação representada na figura 6.2.1, porém levando em consideração o índice de supressão de cada célula, agrupado em 5 grupos de 20 em 20%. Os valores normalizados de todos os grupos apresentaram um comportamento semelhante para os menores tamanhos de estímulo. Porém, para tamanhos maiores podemos observar uma tendência da latência ser maior em unidades com maior supressão. Esta divisão acontece quando há estimulação concomitante de centro e contorno, lembrando que o tamanho máximo de CRC observado em todas as unidades de nosso conjunto de dados não excede 6°. Mais uma vez, é importante ressaltar que o número de unidades em cada ponto varia. Ao subdividirmos as células em grupos de supressão nos deparamos com um caso extremo. O grupo cujo IS é maior que 80% é composto por poucas unidades (n=4). Dentre estas não foi possível estimar um valor de latência dentro do intervalo 20-

220ms para os diâmetros maiores de estímulo. Assim, a curva que representa a resposta deste grupo não finaliza junto com as demais. O mesmo gráfico foi feito para valores absolutos de latência (não mostrado), o que nos permitiu observar que mesmo subdividindo as unidades por intensidade de supressão, este foi semelhante ao feito a partir de valores normalizados, assim como observado na figura 6.2.1.

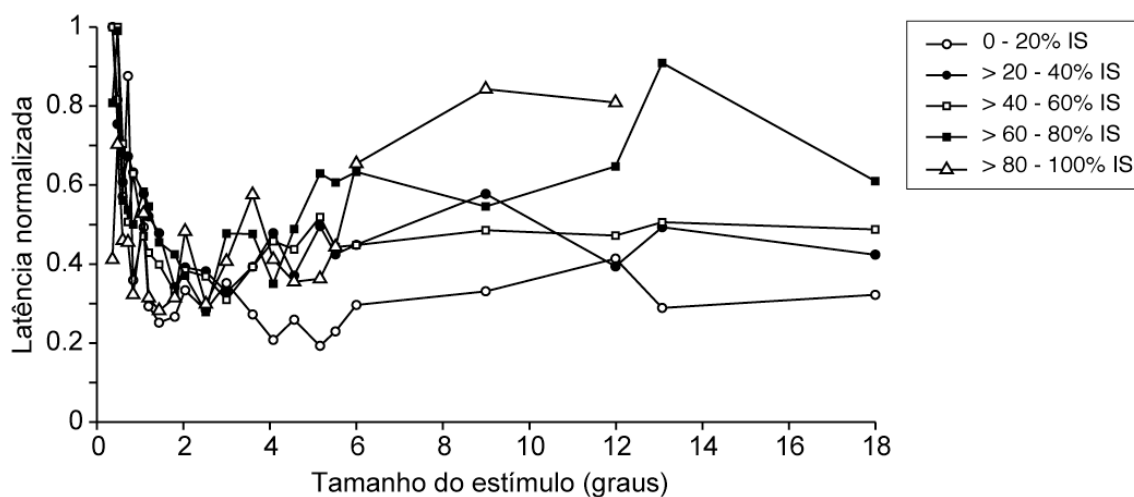


FIGURA 6.2.2: Latência da resposta em função do tamanho do estímulo, demonstrada para valores normalizados agrupados em 5 grupos de índice de supressão (IS), dividido de 20 em 20%.

A partir dos resultados aqui mostrados podemos inferir que quando há estimulação do contorno há também um aumento no tempo de processamento de acordo com a carga inibitória que a célula recebe. Porém, tal suposição pode apoiar-se simplesmente na atividade da célula, não havendo, portanto, uma relação com o nível de supressão. Uma maneira de identificar se a latência da resposta está ou não associada à atividade é inspecionando gráficos da latência em função da taxa de resposta (Raiquel *et al.*, 1999). Se os valores de latência observados são dependentes das diferentes taxas de disparo, então veremos uma única relação entre estas variáveis. Assim, mantivemos a subdivisão de nosso conjunto amostral entre 5 níveis de supressão e fizemos um ajuste dos pontos com uma regressão linear. Esta análise foi feita tanto para o ponto referente ao tamanho de CRC, um estímulo ótimo, assim como para o tamanho correspondente à maior supressão (mínimo de G), afim de estabelecer comparação com um estímulo não-ótimo. A figura 6.2.3 ilustra tal análise para ambas as condições. A avaliação estatística mostrou que tanto as inclinações das retas, assim como os pontos de interceptação ( $x=0$ ) não foram significativamente diferentes entre eles. Logo,

neurônios com maiores níveis de supressão não apresentam latências maiores que não podem ser atribuídas a menores taxa de disparo da célula.

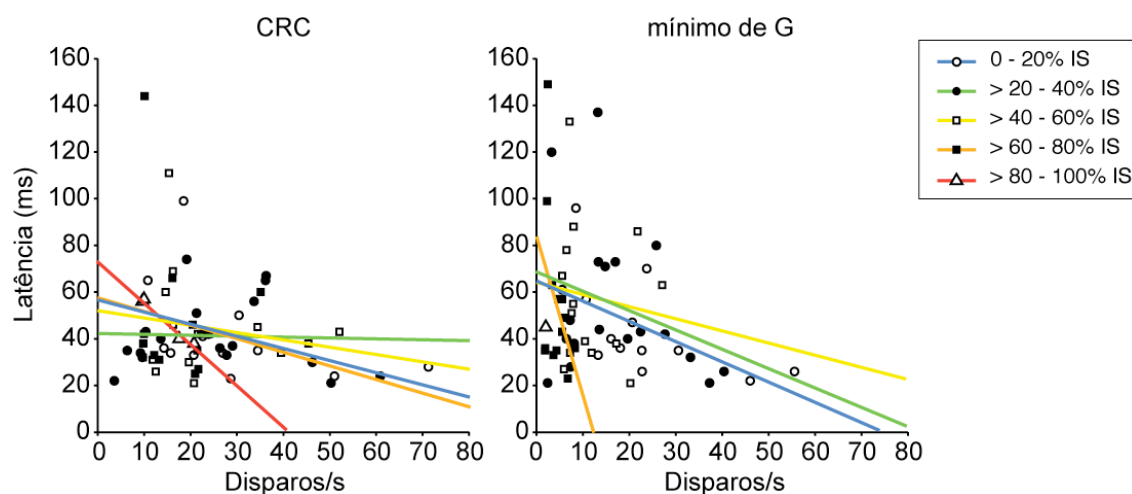


FIGURA 6.2.3: Latência da resposta em função da resposta, agrupadas em 5 grupos de índice de supressão (IS) dividido de 20 em 20%. As linhas representam a regressão linear para cada grupo. No gráfico à direita, somente em uma unidade do subgrupo com  $IS > 80\%$  foi possível efetuar o cálculo de latência no intervalo 20-220ms para o tamanho correspondente ao mínimo de G, impossibilitando a análise de regressão.

O cálculo da supressão ao longo do tempo de estimulação, como descrito na apresentação do capítulo, levou em consideração a latência de cada célula como ponto de partida para o cálculo da atividade integrada. Quando não foi possível estimar a latência de determinada condição dentro do intervalo 20-220ms do início da estimulação, foi adotado como ponto de partida o valor da latência da condição mais próxima, lembrando que não admitimos que mais de três condições por célula não fossem estimadas.

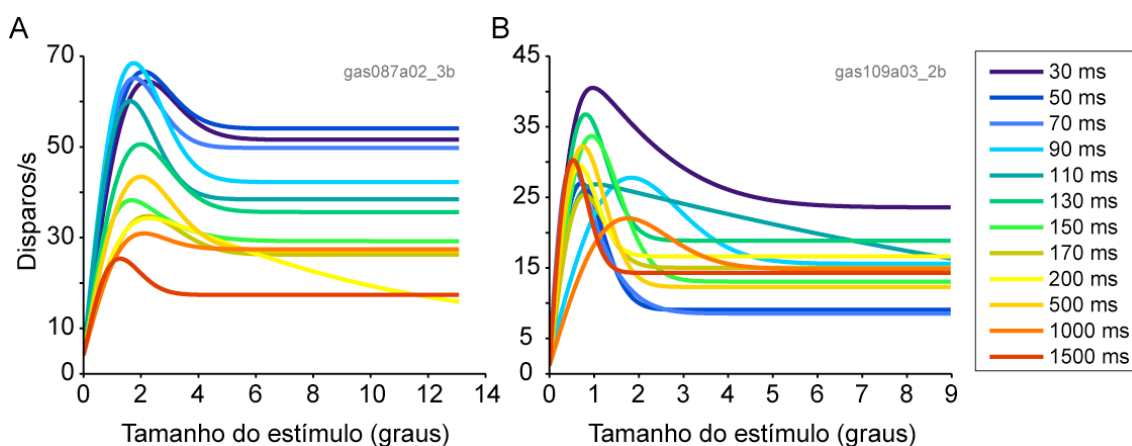


FIGURA 6.2.4: Exemplos de unidades ajustadas com o modelo DoG em diferentes intervalos de resposta integrada. Os valores de tempo na legenda foram considerados a partir da latência para cada célula.

Como o objetivo específico desta análise é fazer uma comparação entre as curvas de ajuste em diferentes intervalos de tempo, optamos por

restringir a atividade espontânea nas opções do ajuste. As curvas obtidas com o modelo DoG mostradas no capítulo 2 foram feitas restringindo a constante espacial excitatória  $a$  para que fosse sempre menor que a constante inibitória  $b$ . Além disso, a oscilação de todas as variáveis da equação foi permitida entre o limite inferior de zero e o limite superior igual a infinito. Os ajustes desta análise, porém, foram feitos sem a restrição de  $a < b$ , uma vez que ao fazê-lo, todas as curvas alcançavam uma assíntota no valor máximo. Assim, deixamos as constantes espaciais livres, o que não significou que a relação  $a < b$  não foi mantida. Dentre as 63 células avaliadas com 12 pontos no tempo (756 curvas), somente 28/756 (3.7%) apresentaram  $a > b$ . Ainda, os limites superior e inferior de variação da atividade espontânea foram limitados em mais e menos seu erro padrão da média, respectivamente. No capítulo 4 exemplificaremos a diferença na resposta com e sem restrição da atividade espontânea. O coeficiente de determinação do ajuste, assim como o teste F, não foram utilizados como critério de exclusão nesta análise.

A figura 6.2.4 ilustra dois exemplos de unidades com as diversas curvas de ajuste da resposta em diferentes intervalos de tempo. Em A, o fato da atividade ter diminuído ao longo da resposta não fez necessariamente com que o índice de supressão tenha aumentado, por se tratar de um valor relativo. Em B não houve uma diminuição gradual da atividade como em A. Na verdade, encontramos uma variação muito grande dos perfis de resposta nas demais unidades, logo nenhum padrão foi observado. Afim de efetuar uma comparação entre elas, utilizamos os índices de supressão calculados sobre a curva de ajuste como previamente descrito. A figura 6.2.5 mostra a variação, ao longo do tempo, de IS subdividido em 5 grupos com níveis diferentes de supressão, agrupados de 20% em 20%. No geral, as curvas já iniciam com a carga de supressão correspondente a sua classe, lembrando que o primeiro ponto corresponde a 30 ms de resposta integrada a partir da latência. Adiante, há um aumento da supressão até 90 ms da resposta, seguido de uma oscilação maior dos valores, possivelmente atrelada a um maior número de pontos representativos. Os valores finais de supressão de cada curva podem, por pouco, não coincidir com a classe à qual ela pertence, como pode ser observado na curva do grupo com  $40\% < IS < 60\%$ . Porém, esta classificação foi efetuada para o tempo total de estimulação, enquanto o último ponto da curva corresponde a 1500 ms após a latência. No fim, não verificamos uma



diferença significativa entre o primeiro ponto (30 ms) e o último ponto (1500 ms).

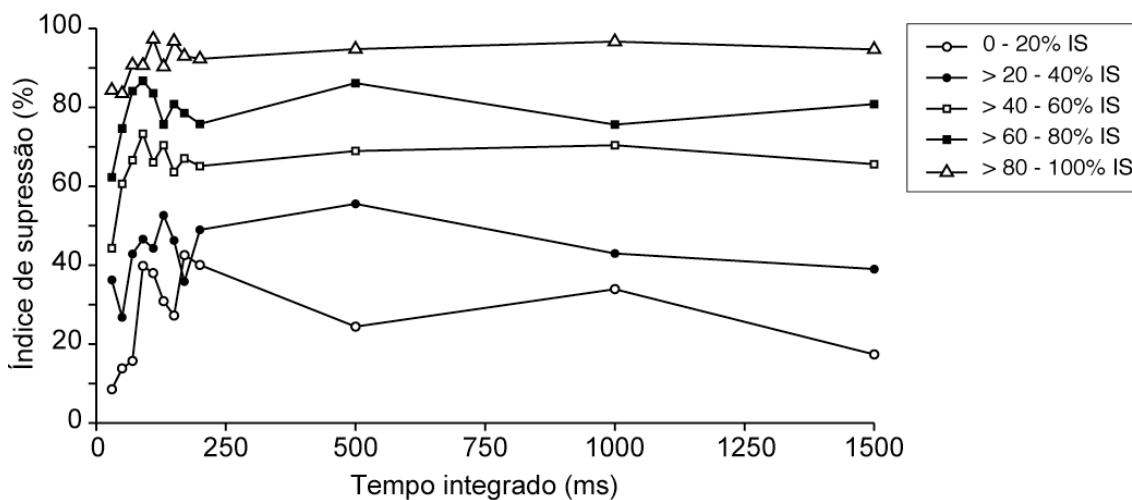


FIGURA 6.2.5: Variação do índice de supressão ao longo do tempo integrado de resposta subdividido em 5 grupos com níveis diferentes de supressão, agrupados de 20% em 20%.

### 6.3. Discussão

A análise envolvendo a evolução temporal das respostas ao aumento de tamanho de grades senoidais de alto contraste em movimento mostrou que a latência foi maior para tamanhos pequenos de estímulo. Além disso, ao subdividirmos esta resposta em grupos de células com diferentes níveis de supressão, encontramos uma tendência da latência da resposta ser maior para unidades com maior supressão na estimulação concomitante de centro e contorno, embora tal fenômeno possa apoiar-se simplesmente nas diferenças da taxa de disparo. Ao avaliarmos a supressão ao longo do tempo vimos que seus níveis totais já se encontravam presentes nos primeiros 30 ms da resposta após a latência.

O cálculo da latência, base para as análises deste capítulo, foi igualmente testado para outros protocolos, como o que utiliza grades senoidais com contraste a 10% e o que tem um formato de anel, cujo diâmetro interno aumenta e o externo é mantido fixo. Porém, devido a baixa atividade destas respostas (resultados do contraste a 10% serão descritos no próximo capítulo), não foi possível estimar a latência segundo a metodologia empregada. Uma avaliação não baseada na latência que gostaríamos de ter feito é o cálculo da diferença da área sob a curva da resposta ao longo do tempo. Para sua efetuação é necessária a implementação de filtros suavizadores aplicados ao histograma peri-estímulo. Porém, a suavização necessária para possibilitar o

cálculo poderia embutir um erro na resposta. O limite de suavização é uma questão crucial, pois caso ele sub-expressse ou super-expressse diferenças entre as curvas, pode induzir a uma conclusão errada. Como não conseguimos achar um método que satisfizesse nossas exigências, resolvemos aguardar até que encontrássemos um.

Em nossos resultados vimos que a latência foi maior para estímulos menores. Porém, isso não significa que a presença da estimulação do contorno fez com que o início da resposta se adiantasse. Pelo contrário, na maior parte das células, esta latência maior foi observada para tamanhos menores que os próprios limites do centro. Acreditamos que este fenômeno está provavelmente relacionado ao aumento do recrutamento de entradas convergentes (Weng *et al.*, 2005). Por outro lado, o aumento da latência durante a estimulação do contorno para unidades com supressão maior foi atribuído à diferença das taxas de disparo, embora em neurônios da área MT/V5 de mamíferos este fato foi associado à própria supressão (Raiguel *et al.*, 1999). Uma vez que a latência aumenta com o número de sinapses ao longo da via visual, estes autores consideram que células com maior supressão podem estar em um estágio de processamento com a intervenção de uma ou mais sinapses. Em neurônios do wulst visual, é provável que os mecanismos envolvidos na supressão gerada pela modulação centro-contorno sejam distintos, como demonstrado a seguir.

A avaliação da supressão ao longo do tempo nos mostrou que logo aos 30 ms de resposta após a latência, a carga supressiva já é compatível com a carga total observada (1500 ms). Isto nos leva a perguntar se esta atividade inibitória acompanha a resposta desde áreas iniciais de processamento. Na área 17 de gatos foi observada a emergência de modulação pelo contorno logo no início da resposta, cuja natureza era principalmente supressiva. Esta atividade independia do tipo celular (se supressiva, platô ou facilitatória) e foi atribuída a conexões alimentadas à jusante. Mais tarde uma nova modulação foi observada, sendo esta diferenciada em supressiva e facilitatória, variando com o tipo celular (Liu *et al.*, 2011). De maneira semelhante, em primatas foi observado um efeito modulatório dividido em duas etapas: uma primeira não-específica, de latência mais curta e ampla distribuição entre as camadas corticais; e outra específica, aparecendo mais tarde, com distribuição menos uniforme e sensível à variação de parâmetros como orientação (Nothdurft *et al.*,

1999). Estes autores acreditam que a supressão não-específica vem, pelo menos em parte, de interações centro-contorno na retina ou no NGL, como eles mesmos observaram em registros em fibras do NGL. Como descrevemos na introdução, é sabido que a supressão gerada pela modulação do contorno é um fenômeno presente no NGL de mamíferos (Webb *et al.*, 2005; Alitto e Usrey, 2008). É possível que a supressão observada em nosso trabalho seja equivalente ao primeiro fenômeno modulatório descrito nestes estudos. Assim, inicialmente acreditamos que um possível mecanismo por trás da supressão gerada pelo contorno em neurônios do wulst pode ser atribuído a conexões alimentadas à jusante. Sabemos que um só mecanismo é insuficiente para explicar as variadas propriedades da supressão causada pela estimulação concomitante de centro e contorno (Smith, 2006), mas, tendo em vista o pequeno conhecimento sobre conectividade no wulst visual, há pouco embasamento teórico que permita uma discussão mais aprofundada sobre o tema.

## 7. CAPÍTULO 4: Invariância do campo receptivo clássico

### 7.1. Apresentação

O campo receptivo clássico de um neurônio, ao contrário do que se pensava, não é invariante em relação a seu tamanho (Kapadia *et al.*, 1999; Sceniak *et al.*, 1999; Nolt *et al.*, 2004; Sceniak *et al.*, 2006; Tailby *et al.*, 2007; Song e Li, 2008). O contraste acromático, fonte de informação crucial para a segmentação de objetos, definido como a diferença relativa de luminância entre determinadas regiões do espaço, influencia o tamanho de CRC. Alguns autores (Sceniak *et al.*, 1999) mostraram que a extensão da somação espacial de neurônios de V1 de macacos depende do contraste, sendo até 2.3 vezes maior em valores baixos, enquanto outros (Kapadia *et al.*, 1999) encontraram uma relação duas vezes maior que esta. Porém, na área 17 de gatos, 40% das células são independentes de tal modulação (Song e Li, 2008). Para abordarmos tal questão em neurônios do wulst visual, utilizamos o anteriormente descrito protocolo G, cujo contraste é de 97%, junto a grades senoidais que compartilham as mesmas características, exceto pelo contraste, mantido a 10%. O conjunto de estímulos em ambos os contrastes recebeu o nome de protocolo Gcont, ilustrado na figura 7.1.1.

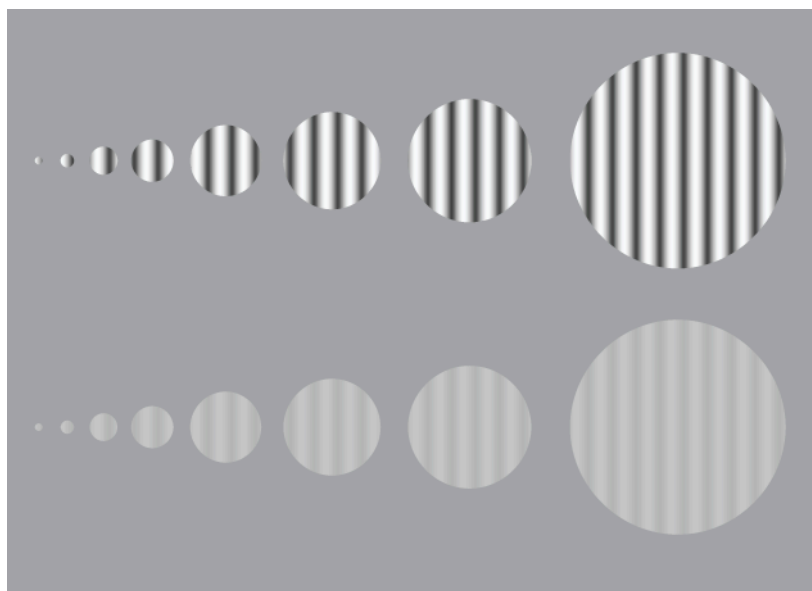


FIGURA 7.1.1: Protocolo Gcont, formado por grades senoidais em movimento de tamanho crescente, com direção e frequências espacial e temporal de acordo com a preferência celular, e contraste a 97% (linha de cima) e 10% (linha de baixo).

Como mencionado, a escolha dos valores de contraste baseou-se no estudo sobre as respostas neuronais do wulst relacionadas ao processamento do contraste. A figura 7.1.2 mostra alguns exemplos de curvas de resposta à variação do contraste obtidas e analisadas por Pedro Gabrielle Vieira como parte de sua dissertação de mestrado (Vieira, 2010).

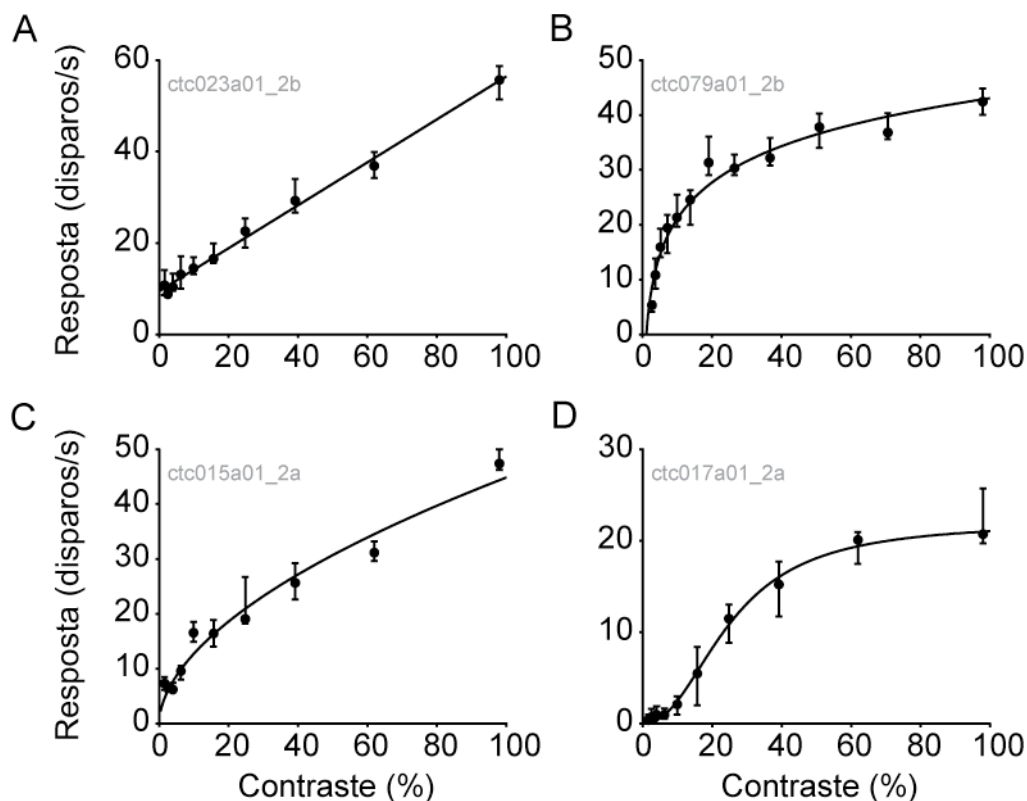


FIGURA 7.1.2: Exemplos de diferentes tipos de resposta ao contraste observadas em neurônios do wulst visual. Os pontos representam a mediana  $\pm$  os percentis 25 e 75%. Os tipos de resposta foram ajustados com diferentes modelos, representados pela linha contínua: (A) linear, (B) logarítmico, (C) potência e (D) taxa hiperbólica. Adaptado de Vieira, 2010.

## 7.2. Resultados

O estudo da invariância do tamanho do campo receptivo clássico em neurônios do wulst visual, utilizando a variação de contraste como instrumento, foi realizado em 95 unidades. Assim como a curva em resposta ao aumento do tamanho do estímulo já descrito para 97% de contraste (protocolo G), quando são apresentadas grades senoidais em movimento com 10% de contraste, a resposta da maior parte das unidades registradas aumenta até atingir um pico, seguido de supressão. A figura 7.2.1 mostra quatro exemplos de curvas de resposta ao protocolo Gcont. Ambas as curvas das unidades representadas em A e B têm sua atividade aumentada até alcançar um pico, considerado CRC, seguido de supressão que se estabiliza em um platô. A principal diferença entre elas se refere ao tamanho de CRC. Enquanto para unidade em A a

diferença é de  $1^\circ$ , em B é de  $0.1^\circ$ . Além disso, a supressão em A faz com que as curvas quase se encontrem para os maiores tamanhos de estímulos, ao contrário de B. Em C, ambas as curvas sofrem pouca supressão, e a distância entre elas no platô chega a ser maior do que em qualquer outro ponto. A diferença no tamanho de CRC para esta célula é intermediária às observadas em A e B, sendo de  $0.87^\circ$ . Outro exemplo de curvas que se mantêm mais distantes está em D, mesmo que em ambas a atividade não alcance um platô após o pico. Esta unidade apresentou seu CRC a 97% de contraste praticamente igual a 10% de contraste, uma vez que a diferença foi muito pequena ( $0.04^\circ$ ). Além destes, a célula representada na figura 7.2.2 apresenta curvas que se cruzam, tamanha é a diferença da supressão que elas sofrem quando CREC é estimulado. Uma avaliação quantitativa da população neuronal com relação a diferentes tamanhos de CRC e índices de supressão, comparando respostas a estimulação em alto e baixo contrastes, será feita a seguir.

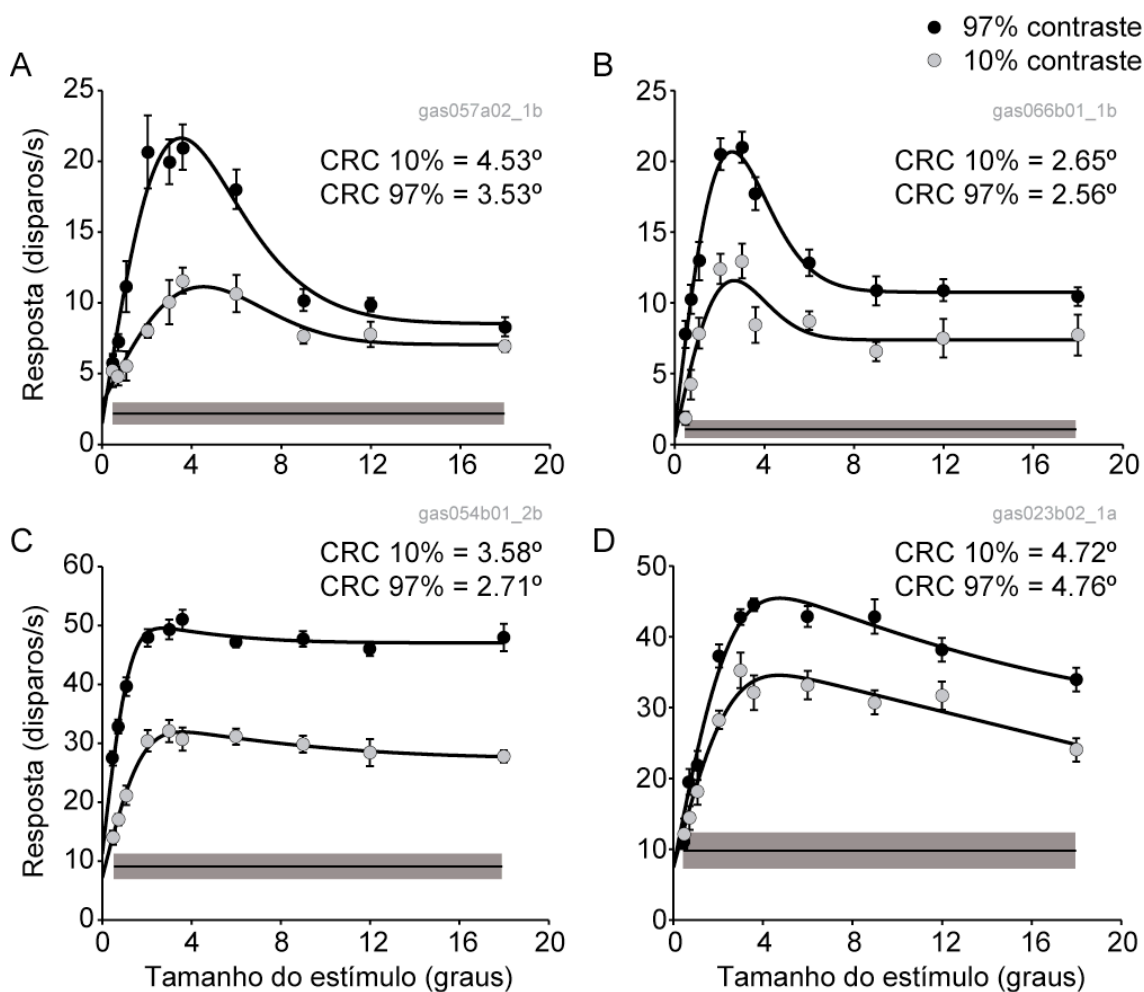


FIGURA 7.2.1: Exemplos de curvas de resposta ao aumento do tamanho do estímulo com 97% de contraste (círculos pretos) e com 10% de contraste (círculos cinzas). (A-D) A linha preta junto aos pontos é resultante do ajuste utilizando o modelo DoG. Os pontos representam a

média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que as barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade.

Os dados apresentados neste capítulo são baseados na curva de ajuste do modelo DoG para ambos os contrastes. Analisando os perfis resultantes deste ajuste, observamos que a origem das curvas apresentava, para algumas células, origem consideravelmente diferente (figura 7.2.2-B). De acordo com a equação utilizada no modelo, esta origem deve refletir a atividade espontânea da célula, inclusive utilizada como ponto de partida desta variável no ajuste. Uma vez que os estímulos em ambos os contrastes foram registrados em conjunto, em ordem pseudo-aleatória, a atividade espontânea para ambos é a mesma. Da mesma maneira que o capítulo anterior, visando fazer uma comparação entre as curvas em resposta aos contrastes 10 e 97%, optamos mais uma vez por restringir a atividade espontânea em mais e menos seu erro padrão da média nas opções do ajuste. Porém, as curvas obtidas com o modelo DoG mostradas neste capítulo foram feitas, mais uma vez (ver capítulo 2), restringindo a constante espacial excitatória  $a$  para que fosse sempre menor que a constante inibitória  $b$ . A figura 7.2.2 mostra diferentes perfis de uma mesma resposta ajustada limitando-se a atividade espontânea em mais e menos seu erro padrão da média (A) e em zero e infinito (B).

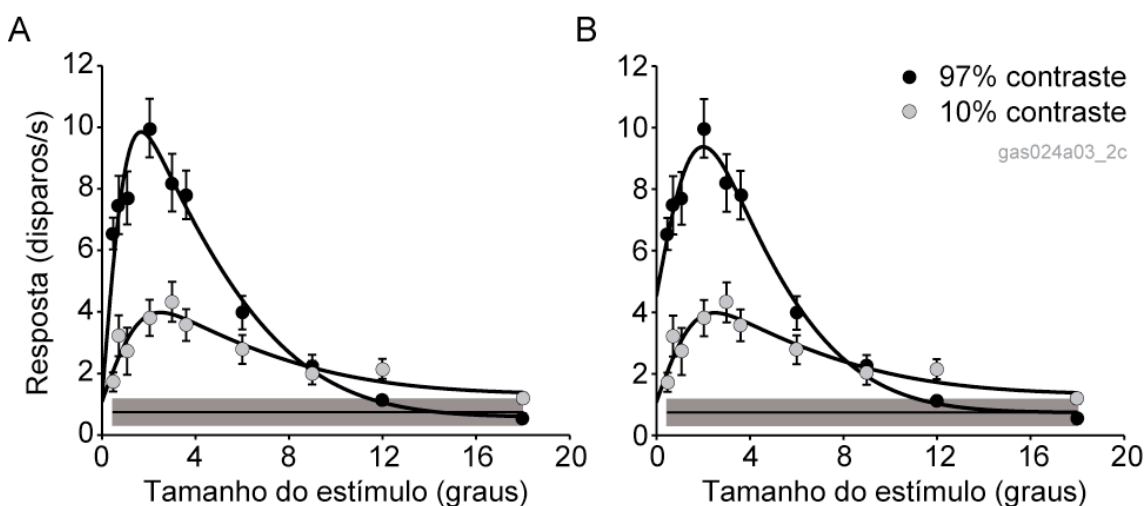


FIGURA 7.2.2: Curva de reposta de uma mesma unidade estimulada com o protocolo Gcont ajustada com (A) e sem (B) restrição da atividade espontânea em mais e menos seu erro padrão da média.

Os critérios de exclusão para que uma unidade fizesse parte da análise populacional são os mesmos descritos no capítulo 2. Brevemente, o ajuste deve apresentar um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) maior que 0.8 e

significância de 95% no teste F. Dentre as 95 células registradas em alto contraste (97%), 70/95 satisfizeram estes critérios, sendo a mediana do  $R^2$  de toda a população ( $n=95$ ) igual a 0.907. Já a qualidade do ajuste para as respostas ao contraste baixo (10%) apresentou valores consideravelmente menores (mediana de 0.728). Da população total avaliada, somente 36/95 alcançaram os índices determinados pelos critérios de exclusão. Além disso, 2/36 unidades apresentaram significância para o contraste baixo, mas não para o alto. Ainda, dentre estas 34 células, uma teve seu perfil classificado como o exemplificado na figura 5.2.2-C, o qual optamos por não incluir em nossa análise populacional. Assim, os resultados mostrados neste capítulo foram obtidos em 33 neurônios. A figura 7.2.3 mostra a diferença acentuada entre os coeficientes de determinação em ambos os contrastes.

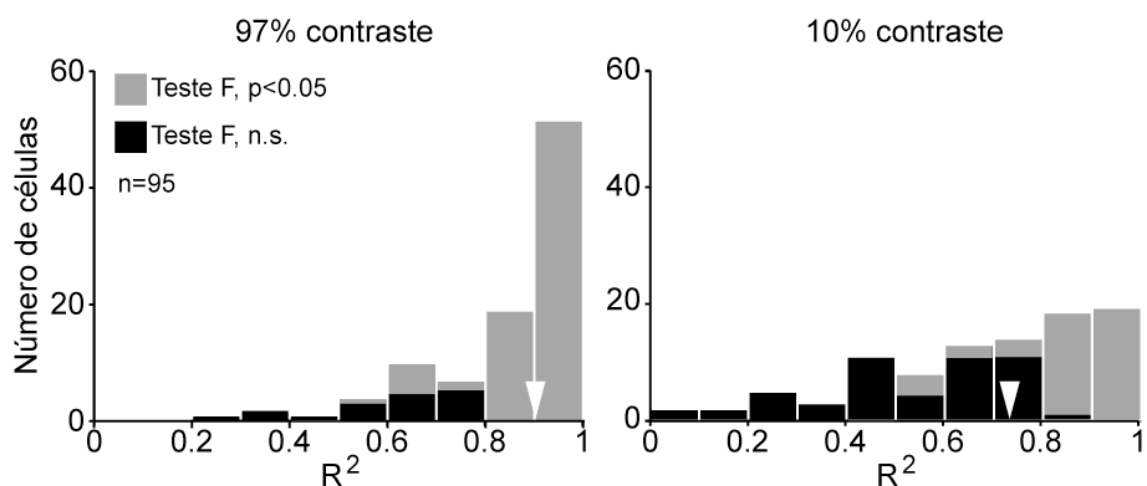


FIGURA 7.2.3: Distribuição do coeficiente de determinação  $R^2$  para os contrastes 97% e 10%. Em cinza, as unidades que foram significativas para o teste F; em preto as que não foram significativas (n.s.). A seta branca indica a mediana, de 0.907 para o contraste alto e 0.728 para o contraste baixo. Tamanho do bin igual a 0.1.

As curvas de ajuste da resposta ao contraste alto apresentaram diferentes perfis. Em 3/33 unidades, este foi classificado como "sem platô", enquanto 6/33 foram consideradas "sem supressão", logo reajustadas somente com a parte excitatória da equação, assim como descrito no capítulo 2. A maior parte de nossa amostra (24/33) pertence ao grupo "supressão", embora as células com supressão menor que 5% foram classificadas como "sem supressão", e reajustadas com somente uma Gaussiana. Já as curvas em resposta a estímulos de baixo contraste, dentre as 33 unidades que compõem a análise populacional, 5/33 foram consideradas "sem platô", sendo que 2/5 foram em comum com as assim classificadas para o contraste alto. Da mesma



forma, 6/33 unidades pertencem ao grupo "sem supressão", dentre as quais 2/6 são as mesmas classificadas como tal para alto contraste. Por fim, a classe predominante apresentou 22/33 células com o perfil chamado de "supressão", das quais 17/22 são unidades em comum com o grupo avaliado para o contraste alto. Assim, os tipos de perfis de resposta ao aumento de tamanho das grades senoidais variaram com o contraste do estímulo.

Da mesma maneira que observamos distintas classes de perfis de resposta para uma mesma célula, os tamanhos de CRC também mudaram com o contraste da estimulação. A figura 7.2.4 mostra dois histogramas de distribuição dos valores dos tamanhos de CRC em ambos os contrastes. Em A, a mediana de  $2.71^\circ$  para esta população é maior do que a observada no capítulo 2 (figura 5.2.4-A, mediana igual  $2.17^\circ$ ,  $n=107$ ). Mesmo assim, os valores encontrados em resposta ao contraste baixo foram maiores, como representados em B, cuja mediana é igual a  $3.54^\circ$ . Ainda na mesma figura, a distribuição das distintas classes de perfis de resposta foram destacadas. Para o alto contraste é possível visualizar a tendência previamente observada das células do grupo "sem supressão" apresentarem CRC maior. Porém, em baixo contraste as três classes de perfil de resposta estão bem distribuídas ao longo dos vários tamanhos.

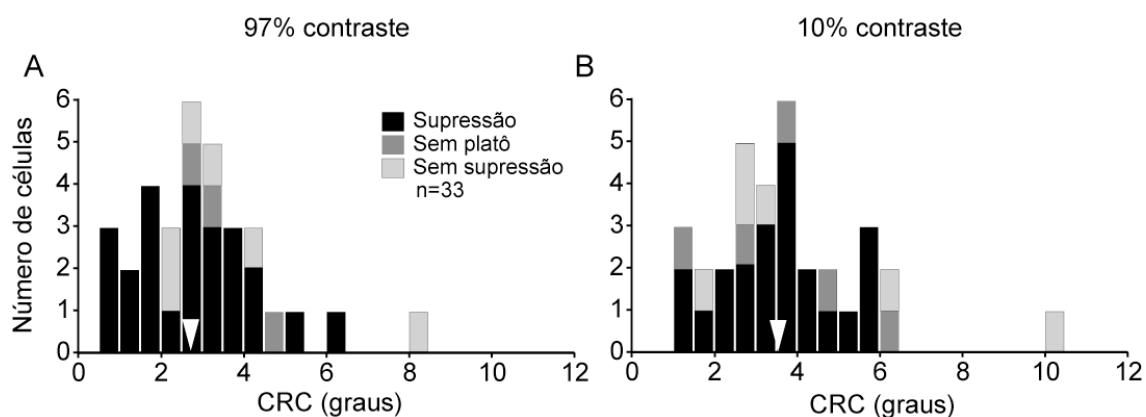


FIGURA 7.2.4: Distribuição do tamanho de CRC em alto (A) e baixo contrastes (B) de acordo com a classificação do perfil de resposta. As setas brancas apontam a mediana, que foi igual a  $2.71^\circ$  para o contraste alto e  $3.54^\circ$  para o contraste baixo. Tamanho do bin igual a  $0.5^\circ$ .

Uma comparação mais direta da diferença do tamanho de CRC em ambos os contrastes pode ser visualizada no gráfico onde a representação mostra valores individuais para cada célula (figura 7.2.5-A). Nele, fica clara a tendência do campo receptivo ser maior em baixo contraste se comparado com alto contraste. Enquanto 29/33 unidades têm CRC maior a 10% de contraste,

há quatro unidades que apresentaram tamanhos de CRC maiores a 97% de contraste (exemplo na figura 7.2.3-D). Porém, a diferença entre elas é pequena, de no máximo  $0.35^\circ$ . Há uma forte correlação entre as variáveis em A, cujo coeficiente de correlação é igual a 0.9153. A figura 7.2.5-B mostra um gráfico Bland-Altman para os tamanhos de CRC de ambos os contrastes, onde podemos mais uma vez constatar o maior tamanho de campos receptivos para o contraste baixo. A linha horizontal, representando a média da subtração das variáveis, evidencia que a diferença entre os tamanhos de CRC, embora existente, não é grande. De fato, quase 80% dos dados apresentam uma diferença entre os tamanhos de CRC em ambos os contrastes de até  $1^\circ$ .

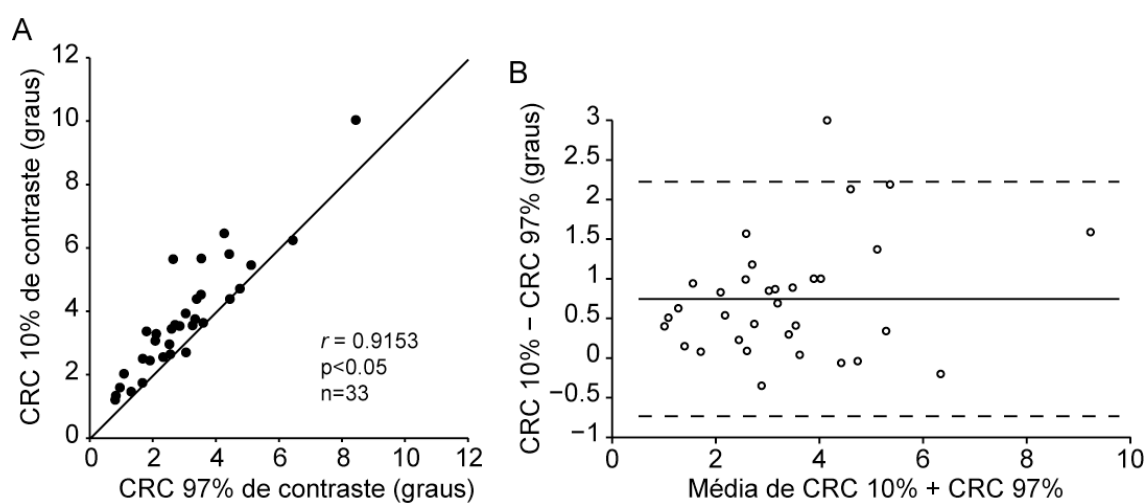


FIGURA 7.2.5: (A) Correlação entre o tamanho de CRC em alto e baixo contrastes ( $r$  = coeficiente de correlação de Pearson). A linha diagonal marca a relação 1:1 das variáveis. (B) Gráfico Bland-Altman mostrando a diferença entre os tamanhos de CRC em ambos os contrastes. A linha contínua marca a média da diferença, enquanto as linhas pontilhadas marcam a média da diferença  $\pm$  dois desvios padrões.

As simulações mostradas na metodologia mostraram que a constante espacial excitatória  $a$  do modelo DoG é a maior responsável por mudanças no pico da curva de somação espacial, de onde estimamos o tamanho de CRC. Como observamos uma mudança no tamanho do campo em função do contraste da estimulação, resolvemos analisar se ela se reflete nas constantes  $a$  pra cada curva de resposta ao contraste. A figura 7.2.6-A mostra uma correlação significativa ( $\rho=0.7862$ ,  $p<0.05$ ) entre estas duas variáveis. O gráfico evidencia que, assim como o tamanho de CRC, os valores de  $a$  em baixo contraste tendem a ser maiores.

O tamanho do campo receptivo clássico tem sido estimado como o tamanho ótimo do estímulo que induz a maior resposta. Visando confirmar que

as medidas do tamanho de CRC estimadas classicamente estão relacionadas com a constante espacial excitatória do modelo DoG, resolvemos comparar diretamente as duas variáveis. O índice que representa a mudança na constante espacial excitatória é a razão entre  $a$  em baixo contraste e  $a$  em alto contraste. Um valor maior significa que a constante espacial excitatória é maior em baixo contraste se comparado ao alto contraste. Utilizamos o mesmo índice com relação ao tamanho de CRC. A figura 7.2.6-B mostra que as mudanças contraste-dependentes no tamanho do campo determinado classicamente estão correlacionadas com mudanças na constante espacial excitatória. Nele podemos ver que a dispersão do índice baseado nas constantes espaciais excitatórias é maior que a da razão entre CRC em baixo e alto contrastes. O fato desta correlação não ser tão forte ( $\rho=0.5426$ ), embora significativa, mostra que os ganhos excitatório e inibitório têm uma participação considerável na estimação do tamanho de CRC.

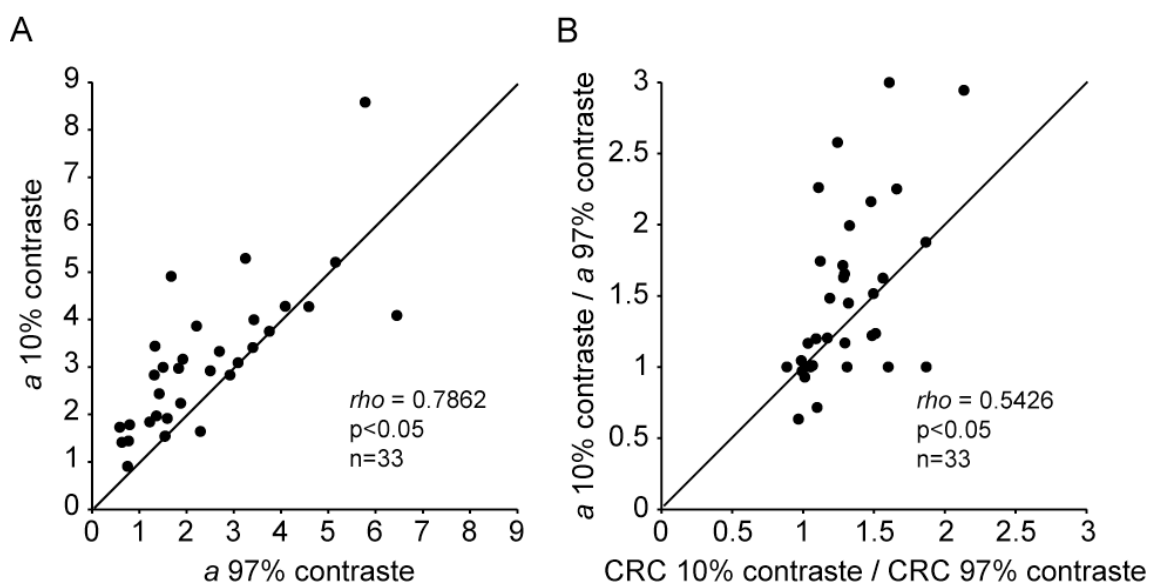


FIGURA 7.2.6: (A) Correlação entre a constante espacial excitatória  $a$  em alto e baixo contrastes. (B) Correlação entre a razão da constante espacial excitatória  $a$  em baixo e alto contrastes com a razão do tamanho de CRC em baixo e alto contrastes. As linhas diagonais marcam a relação 1:1 das variáveis.

Assim como o tamanho de CRC, o índice de supressão também variou com o contraste. A figura 7.2.7 mostra a distribuição dos valores de IS para o contraste alto (A) e baixo (B). Em A, a supressão tem ampla distribuição com mediana igual a 21.41%. Se compararmos à figura 5.2.4-B, vemos uma diferença, assim como a observada para o tamanho de CRC, já que sua mediana é igual a 33.04 ( $n=107$ ), talvez associada ao diferente tamanho da

amostra. Em B, os valores de IS em resposta ao baixo contraste apresentam uma mediana menor, igual a 16.31. Ao todo, 22/33 unidades apresentaram IS maior para o contraste alto. Assim, de maneira geral, podemos observar que unidades em baixo contraste apresentaram um tamanho de CRC maior associado a uma menor supressão. Mais uma vez em nossos dados vemos a tendência de que quanto maior o campo receptivo, menor a supressão. É importante ressaltar que ao compararmos os valores de tamanho de CRC e IS obtidos pela análise do protocolo Gcont (n=33) com os já apresentados para o protocolo G (n=107), mostrados na figura 5.2.4, as diferenças observadas mantêm esta tendência.

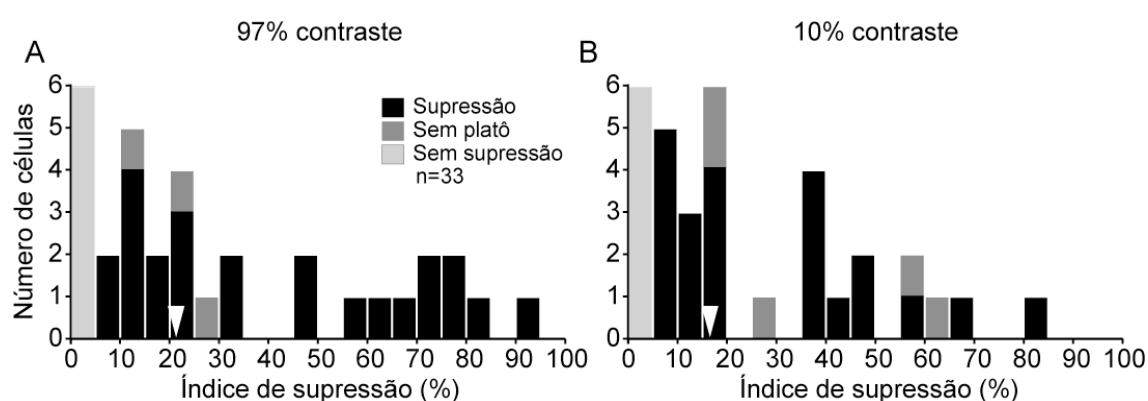


FIGURA 7.2.7: Distribuição do índice de supressão para alto (A) e baixo contrastes (B) de acordo com a classificação do perfil de resposta. As setas brancas apontam a mediana, que foi igual a 21.41% para o contraste alto e 16.31% para o contraste baixo. Tamanho do bin igual a 5%.

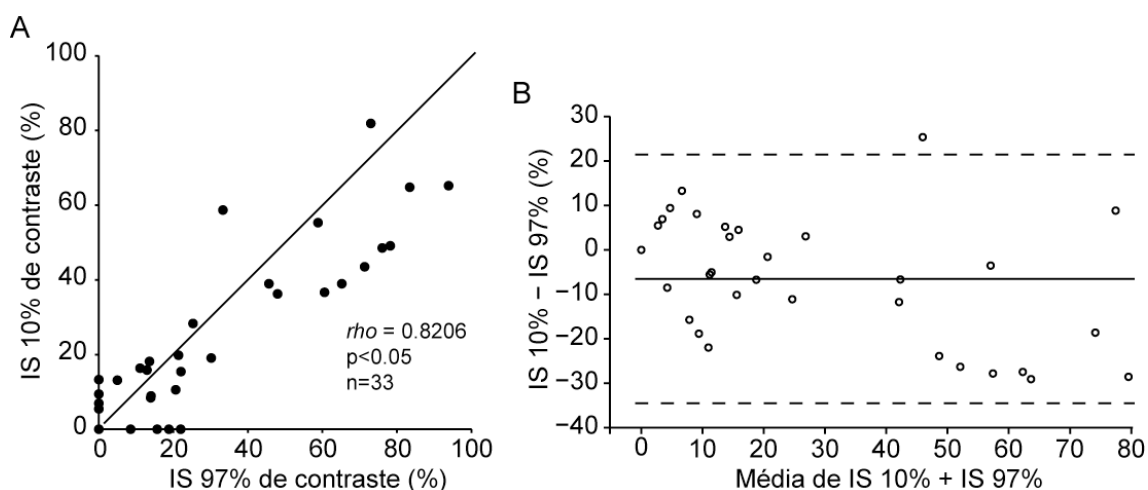


FIGURA 7.2.8: (A) Correlação entre o índice de supressão em resposta a estímulo de alto e baixo contrastes. A linha diagonal marca a relação 1:1 das variáveis. (B) Gráfico Bland-Altman mostrando a diferença entre os índices de supressão para ambos os contrastes. A linha contínua marca a média da diferença, enquanto as linhas pontilhadas marcam a média da diferença  $\pm$  dois desvios padrões.

A relação dos índices de supressão em alto e baixo contrastes, analisando as respostas celulares individualmente, não é tão forte quanto para os tamanhos de CRC (figura 7.2.8-A). Mesmo assim foi observada uma correlação significativa de coeficiente igual a 0.8206. Os valores de IS apresentaram uma variação maior, embora a média da diferença tenha sido pequena (figura 7.2.8-B). A maior parte das unidades apresentou uma diferença, entre os dois contrastes, de até 40% de supressão.

### 7.3. Discussão

Os resultados apresentados neste capítulo mostraram que o tamanho do campo receptivo clássico de neurônios do wulst visual não é invariante: a maior parte deles (29/33) CRC maior para o contraste baixo. Além disso, grande parte da nossa amostra (22/33) obteve um índice de supressão menor para o contraste baixo, reforçando a hipótese que em neurônios do wulst visual a supressão é menor para tamanhos maiores de CRC. Ainda, encontramos um menor coeficiente de determinação em resposta ao baixo contraste, assim como a mudança da classe de perfil de uma mesma unidade frente aos dois contrastes distintos, provavelmente associados à baixa relação sinal-ruído observada na resposta ao contraste baixo.

Assim como em mamíferos (Kapadia *et al.*, 1999; Sceniak *et al.*, 1999; Nolt *et al.*, 2004; Sceniak *et al.*, 2006; Tailby *et al.*, 2007; Song e Li, 2008), o CRC em resposta a um estímulo de baixo contraste tende a ser maior. Porém, a diferença encontrada em nossos dados é consideravelmente menor que as encontradas nestes animais. Em 80% das células, ela foi de até 1°, o que significa que em média o CRC em baixo contraste foi 1.31 vezes maior que em alto contraste, comparando célula por célula. Em primatas, como descrito na apresentação do capítulo, a magnitude da diferença entre os tamanhos de CRC varia, podendo ser igual a 2.3 (Sceniak *et al.*, 1999), 3 (Cavanaugh *et al.*, 2002a) e até 4 vezes maior em baixo contraste (Kapadia *et al.*, 1999). Além disso, este fenômeno foi robusto, sendo observado em 88% das unidades, comparado aos 40% de prevalência na área 17 de gatos (Song e Li, 2008). Acredita-se que a mudança da somação espacial em diferentes contrastes permite o sistema visual otimizar sua performance sob diferentes condições de estimulação. Funcionalmente, há uma melhora da sensibilidade em baixo contraste e da localização em alto contraste (Sceniak *et al.*, 1999), ou seja,

uma diminuição da resolução em prol da capacidade de extrair mais informação do espaço. Assim, as interações contraste dependentes em neurônios do wulst visual realçam a complexidade de processos integrativos ocorrendo nesta área.

No V1 de primatas, foi demonstrado que o aumento do contraste do estímulo diminuía o tamanho de CRC não afetando a supressão induzida pelo contorno (Sceniak *et al.*, 1999; Cavanaugh *et al.*, 2002a). Logo, foi sugerido que a modulação pelo contraste do tamanho do campo receptivo clássico envolve a mudança do acoplamento excitatório entre células corticais. Entretanto, nossos dados mostraram que, para a maior parte das unidades, o aumento do contraste diminuía o tamanho de CRC assim como aumentava a supressão. Este fenômeno foi igualmente observado para neurônios da área 17 de gatos (Song e Li, 2008; Wang, 2009), embora, como demonstrado, a prevalência do efeito varie. Uma diminuição na magnitude da supressão, acompanhada do aumento do tamanho do campo receptivo, pode contribuir para a maximização da performance do sistema visual sob várias condições de estimulação. Em primatas, porém na área MT/V5, foi encontrado que a diminuição do contraste enfraquecia a supressão causada pela estimulação do contorno, mas a diminuição da coerência do estímulo mostrou um efeito oposto, indicando que a diminuição da supressão não é uma resposta universal a estímulos com baixa relação sinal-ruído (*signal-to-noise*, Hunter e Born, 2011). Estes resultados são consistentes com um mecanismo de normalização da supressão gerada pela estimulação do contorno que reúne várias dimensões do estímulo.

## 8. CAPÍTULO 5: Seletividade à direção do contorno

### 8.1. Apresentação

Uma característica interessante acerca da modulação contextual é que nem sempre o contorno exerce efeitos supressórios sobre a atividade do centro, embora este seja o fenômeno mais comum. Tem sido demonstrado que a estimulação do campo receptivo extra-clássico pode tanto facilitar quanto suprimir respostas corticais dependendo de sua orientação relativa (Knierim e Van Essen, 1992; Kapadia *et al.*, 1995; Levitt e Lund, 1997; Dragoi e Sur, 2000; Jones *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002b; Jones *et al.*, 2002; etc). Geralmente, a presença de um estímulo no contorno cuja orientação é semelhante à preferida da célula leva à supressão da resposta induzida por um estímulo otimizado dentro do campo receptivo clássico, enquanto a estimulação do contorno com um estímulo cuja orientação seja ortogonal à preferida resulta em uma facilitação da resposta. Neste caso, a célula responde além do nível esperado após a estimulação com a orientação ótima (Dragoi e Sur, 2000).

Visando compreender algumas especificidades da modulação contextual em corujas, este capítulo tem como objetivo a investigação deste efeito a partir do protocolo CSG, no qual o centro é do tamanho de CRC e as frequências espacial e temporal, além da direção, são as preferidas. O contorno deste estímulo difere do centro somente na direção, que varia a cada 22,5° (figura 8.1.1). O diâmetro externo do estímulo foi mantido fixo durante os protocolos, sendo ele de 9° ou 12°.

Alguns fenômenos sugerem que a modulação contextual pode fundamentar tipos específicos de desambiguações perceptuais (Albright e Stoner, 2002). Um fenômeno perceptual amplamente conhecido é o de complemento (*filling-in*). Em nosso estudo exploramos o tipo de complemento modal, utilizando uma lacuna de luminância semelhante ao fundo entre o centro e o contorno do estímulo CSG (figura 8.1.1, estímulos na extrema direita, chamados de CSG-complemento). Esta lacuna foi posicionada em uma região fora de CRC e mantida com o tamanho único de 0.9°. Desta maneira foi possível explorar se um contorno ilusório impede um complemento do tipo modal, refletido na diminuição da resposta se comparado a um estímulo na ausência da lacuna.



FIGURA 8.1.1: Protocolo CSG, formado por grades senoidais em movimento com frequências espacial e temporal de acordo com a preferência celular. O centro, do tamanho de CRC, foi mantido sempre na direção preferida, enquanto a direção do contorno variou a cada  $22.5^\circ$ , resultando em 16 condições distintas (embora a figura, por ser estática, só represente as 8 orientações). Junto a essas condições foi utilizado um estímulo que cobre somente o centro, assim como um que cobre somente o contorno. Na extrema direita estão os estímulos CSG complemento, onde uma lacuna isoluminante de  $0.9^\circ$  separa centro e contorno quando este encontra-se na direção preferida ou com uma defasagem de  $90^\circ$ .

Neste capítulo contamos com a colaboração de Claudiana Souza de Amorim, que gentilmente cedeu dados de sua dissertação de mestrado, sobre a interferência do contraste na seletividade à direção.

## 8.2. Resultados

O estudo do efeito da direção do contorno modulando a resposta obtida pela estimulação ótima de CRC baseou-se em 42 unidades. Porém, ao longo dos experimentos, resolvemos incluir novos estímulos às 16 direções distintas do contorno. Assim, dentre estas 42 unidades, 33/42 foram registradas concomitantemente com uma grade senoidal do tamanho de CRC na ausência da estimulação do contorno. Além disso, em 31/42 unidades foram registradas também respostas a um anel na direção preferida com diâmetro interno do tamanho de CRC. Por fim, em 28/42 unidades incluímos ainda os estímulos CSG-complemento, onde uma lacuna separou o centro do contorno.

Os resultados sobre a seletividade à direção do contorno, mantendo o centro na direção preferida, foram comparados à seletividade à direção quando ambos, centro e contorno, são estimulados na mesma direção. Para isso utilizamos o protocolo de avaliação de direcionalidade, citado na metodologia, composto por grades senoidais em movimento em alto contraste com frequências espacial e temporal preferidas e  $6^\circ$  de diâmetro. A seletividade à direção de todo o campo receptivo foi avaliada através do índice de direcionalidade (*ID*):



$$ID = 1 - \left( \frac{R_{anti} - R_{espont}}{R_{pref} - R_{espont}} \right)$$

onde  $R_{anti}$  é a resposta à direção anti-preferida,  $R_{espont}$  é a atividade espontânea e  $R_{pref}$  é a resposta à direção preferida. Os valores desse índice variam de 0, para células que respondem igualmente a ambas as direções, a 1, para células que respondem exclusivamente a uma direção de movimento. Valores maiores que 1 ocorrem para células que respondem abaixo da atividade espontânea para a direção anti-preferida. Assim, consideramos seletivas à direção as unidades que apresentam  $ID \geq 0.5$  (Baron *et al.*, 2007).

As figuras 8.2.1-A,C,E mostram três exemplos de resposta à variação da direção concomitante de centro e contorno. As três apresentam preferências distintas, embora todas sejam seletivas à direção ( $ID \geq 0.5$ ). À direita dos gráficos polares estão os gráficos das respostas destas mesmas células à variação da direção do contorno, com o centro mantido na direção preferida (representada como 0° independente de seu valor absoluto). A unidade em B mostra uma diminuição da supressão, se compararmos com a resposta à estimulação de CRC sozinho, para as direções que diferiram mais de 50° da preferida; a estimulação do contorno de CRC induziu uma atividade semelhante à espontânea. Já a unidade em D sofreu uma redução ainda maior da supressão, pois quando centro e contorno encontravam-se ortogonais (90° e 270°) a taxa de disparo foi semelhante à da estimulação de CRC sozinho (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ). Porém, a valores próximos da direção preferida (0° e 180°) a supressão foi maior, chamando a atenção sobre a seletividade à orientação. Ainda na célula em D podemos notar uma maior atividade da resposta à estimulação de CREC. Esta unidade apresenta o que chamamos de zona incerta, descrita no capítulo 2, quando há a presença de uma região onde a atividade resulta de um balanço do centro excitatório e do contorno inibitório. Embora os valores de maior supressão sejam equivalentes à atividade induzida pela estimulação de CREC, esta é consideravelmente maior que a atividade espontânea (segundo o método de sobreposição de intervalos de confiança). A unidade representada em F também apresenta uma resposta do contorno maior do que a linha de base (presença da "zona incerta"). Porém, não houve supressão equiparada na presença da estimulação concomitante do centro, independentemente da direção de CREC. Esta célula é um exemplo de ausência de seletividade à direção do contorno, embora quando a direção do

centro variou junto com a do contorno, houve seletividade (E). Em nossa população, encontramos 7/42 unidades com este comportamento, além de 9/42 com o comportamento inverso (seletividade à direção do contorno e ausência de seletividade de direção quando centro e contorno variam juntos).

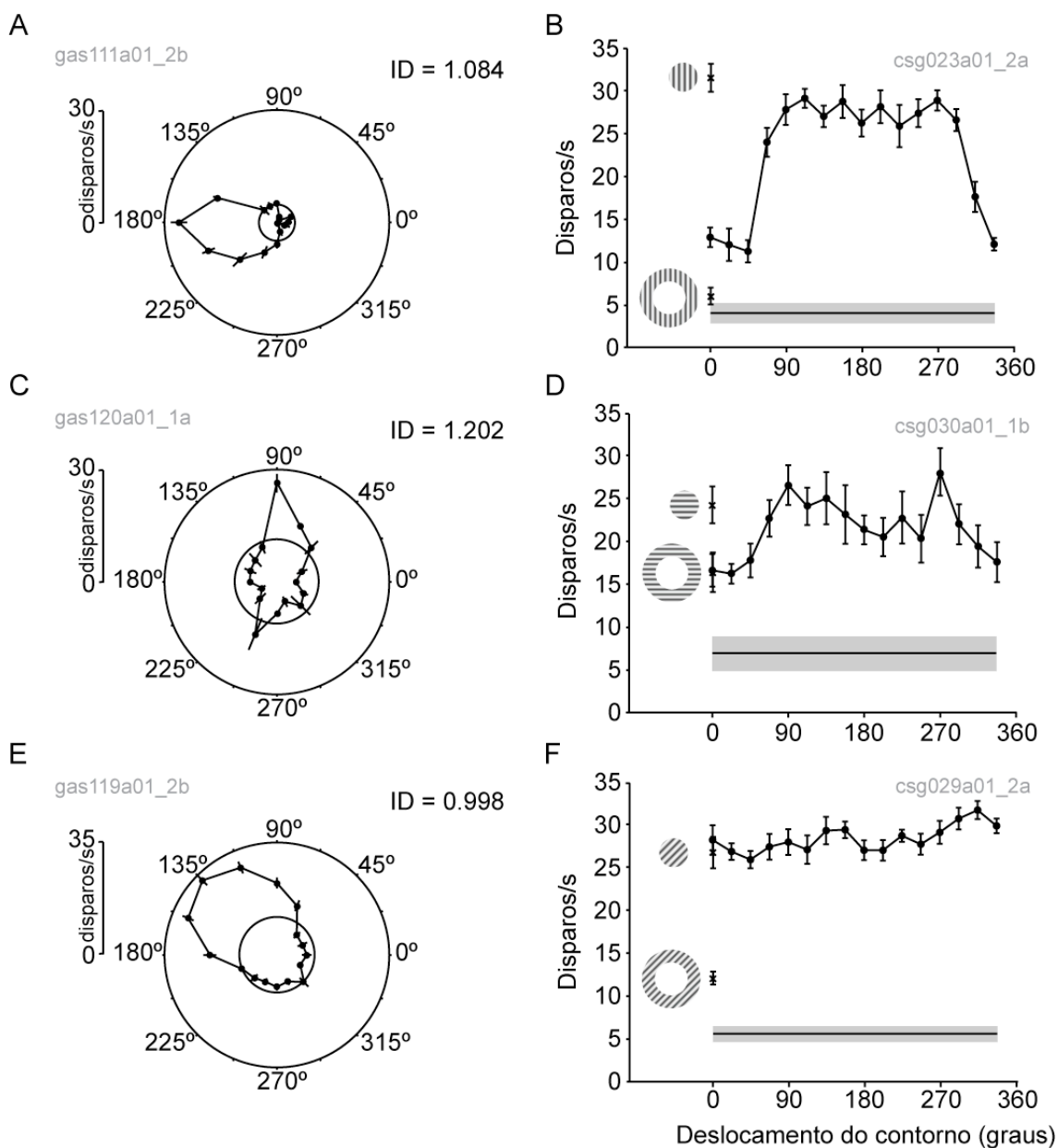


FIGURA 8.2.1: Características da seletividade à direção de áreas específicas do campo receptivo. (A,C,E) Exemplos de gráficos polares mostrando a preferência de direção de três células, estimuladas em ambos centro e contorno com a mesma direção. A dimensão radial corresponde à amplitude da resposta; traços cruzando os pontos apontam a direção a que eles respondem, sendo seu comprimento equivalente a  $\pm$  o erro padrão da média; o círculo interno representa a atividade espontânea. (B,D,F) Exemplos de resposta à mudança relativa de direção do contorno das mesmas unidades representadas nos gráficos polares, onde  $0^\circ$  é a direção preferida da célula, independente de seu valor absoluto. Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que as barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade. As cruces mostram a resposta média à estimulação de somente CRC e CREC, ambos na direção preferida,  $\pm$  o erro padrão da média, como ilustrado pelos estímulos posicionados a sua direita. As unidades em B e D são sensíveis à direção do contorno (Kruskal-Wallis,  $p < 0.05$ ), enquanto a unidade F não é, embora apresente seletividade quando ambos centro e contorno são estimulados com a mesma direção (E).

Dentre os perfis de resposta observados para unidades seletivas à direção do contorno, não conseguimos encontrar padrões que nos permitissem classificá-los em grupos, tamanha foi sua variabilidade. Logo, afim de verificar a presença de uma tendência de resposta, normalizamos a atividade de maneira relativa à resposta induzida pela estimulação de CRC somente (igual a 1) e à atividade espontânea (igual a 0). Para isso dividimos as células em dois grupos: as que apresentaram seletividade à direção do contorno (figura 8.2.2-A) e as que não apresentaram tal seletividade (figura 8.2.2-B). Em A, a atividade aumenta para direções de contorno com deslocamento relativo maior que 60°, aproximadamente, mostrando uma diminuição da supressão devido à mudança de direção do contorno. Em B não há diferença entre as diferentes direções de CREC (Kruskal-Wallis,  $p < 0.05$ ) e, se comparado a A, observamos um maior nível de atividade (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ). Supomos que esta diferença pode basear-se no fato da seletividade à direção do contorno estar relacionada com a supressão resultante da modulação centro-contorno, como será discutido posteriormente. Ainda na figura 8.2.2, podemos notar a presença de uma alta atividade induzida pela estimulação de CREC sozinho se comparada à atividade espontânea. Como explicado para os exemplos unitários, esta diferença está relacionada à presença da zona incerta. Embora a atividade induzida pela estimulação de CREC sozinho seja maior para unidades sem seletividade à direção do contorno, não observamos diferença estatística significativa entre ela e a de unidades não-seletivas.

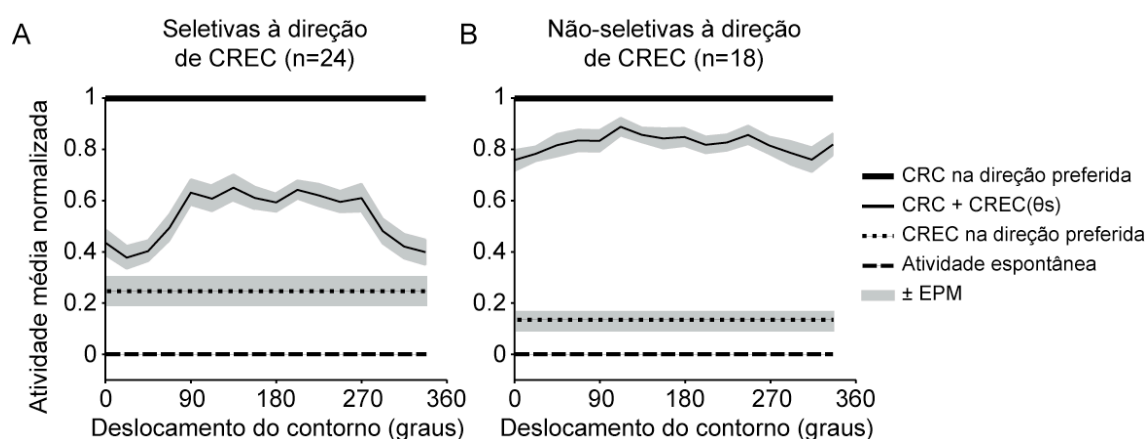


FIGURA 8.2.2: Gráficos populacionais da atividade média das curvas de seletividade à direção do contorno normalizada utilizando a resposta à CRC como máximo e a atividade espontânea como mínimo, de acordo com a equação  $[(x - \min) / (\max - \min)]$ . As células foram divididas em dois grupos: as que apresentaram seletividade à direção do contorno (A) e as que não apresentaram tal seletividade (B).

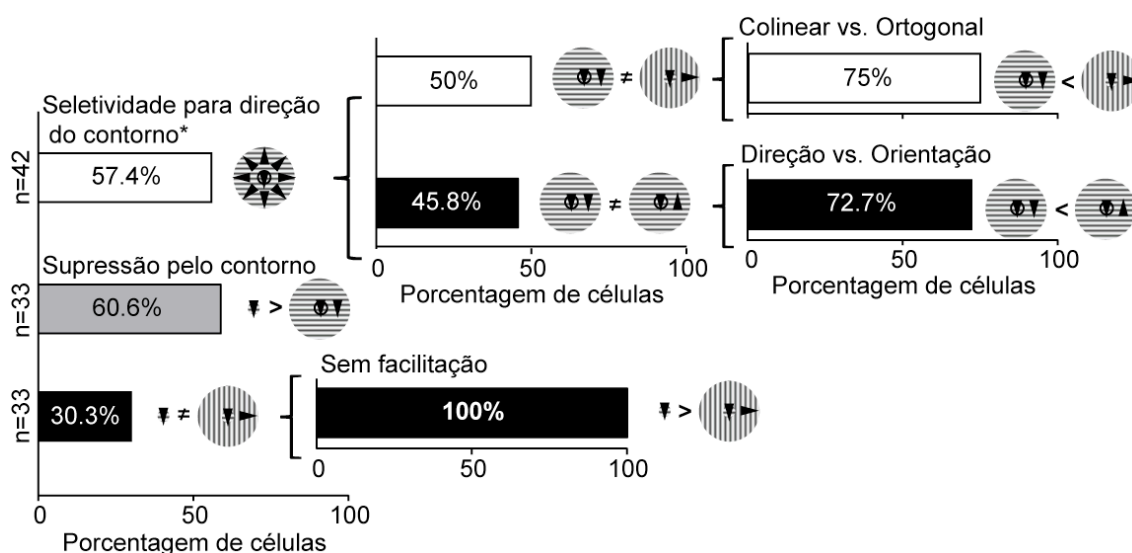


FIGURA 8.2.3: Diagrama da prevalência populacional de atributos relacionados à direção do contorno. As pontas de setas simbolizam a direção do movimento; para a seletividade à direção do contorno utilizamos 16 direções, embora não houvesse espaço para tantos símbolos representativos. Todas as análises foram feitas utilizando o teste Wilcoxon, exceto para (\*) Kruskal-Wallis. Dados dentro de colchetes foram analisados utilizando o subgrupo populacional que o precede. Os anéis pretos separando o centro do contorno foram usados somente na figura para facilitar a visualização quando ambos estão na mesma orientação.

A partir da análise estatística populacional (Kruskal-Wallis\* e Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) elaboramos o diagrama representado na figura 8.2.3. Das 42 unidades registradas com o protocolo CSG, 24/42 (57.4%) apresentaram seletividade à direção do contorno. Dentre elas, 12/24 (50%) apresentaram uma diferença significativa entre respostas com o contorno a 0° (colinear) e a 90° (ortogonal), sendo 9/12 (75%) com atividade maior para centro e contorno ortogonais. Ainda dentre as unidades seletivas, 11/24 (45.8%) apresentaram respostas diferentes quando o contorno encontrava-se a 0° e a 180° (mesma orientação na direção oposta), sendo que para a maior parte delas (8/11 ou 72.7%) o efeito da direção sobressaiu-se. Ao compararmos a resposta à estimulação somente de CRC com a do centro e contorno colineares verificamos que 20/33 células (60.6%) apresentaram diferença significativa. Todas as demais unidades (13/33) não são seletivas à direção do contorno. Calculando o índice de supressão utilizado no capítulo 2 sobre estas duas condições, encontramos uma mediana de 37.4%, similar aos resultados mostrados anteriormente. Ainda utilizando a atividade induzida pela estimulação somente de CRC, desta vez comparada a um estímulo em que centro e contorno apresentavam 90° de defasagem, vimos que apenas 10/33 unidades (30.3%) foram diferentes, sendo a condição com estimulação de

CREC sempre menor. Assim podemos afirmar que não encontramos facilitação quando centro e contorno são ortogonais, como tem sido descrito na literatura. A unidade representada na figura 8.2.1-F contém a única condição, dentre todas as condições de todas as células, em que pudemos verificar a presença de facilitação (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ), no caso com uma defasagem de  $315^\circ$ . É importante lembrar que esta unidade não é seletiva à direção do contorno.

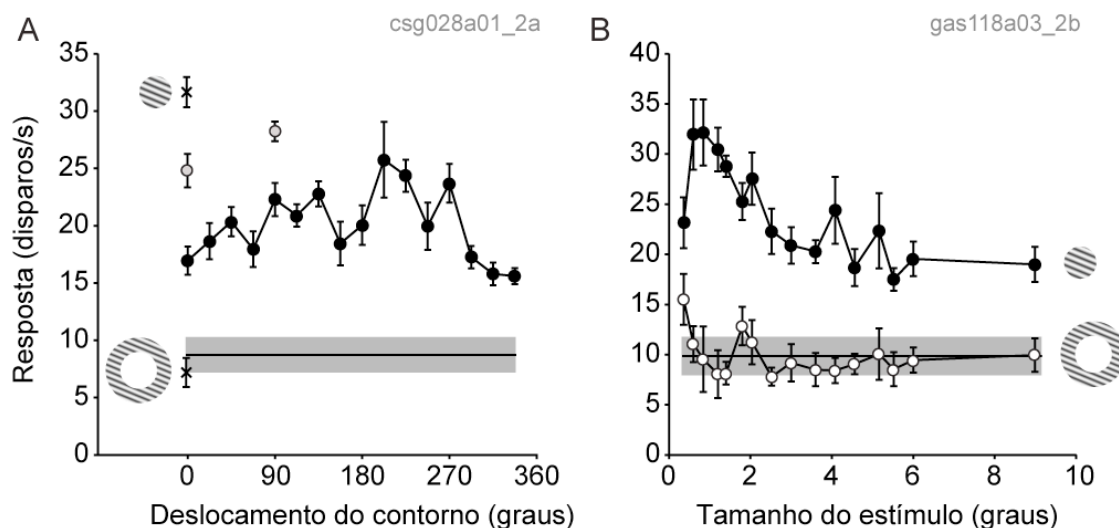


FIGURA 8.2.4: (A) Exemplo de curva de resposta à variação da direção do contorno (círculos pretos). As cruzes mostram a resposta à estimulação de somente CRC e CREC, ambos na direção preferida, como ilustrado pelos estímulos posicionados a sua direita. Os círculos cinza simbolizam a resposta aos estímulos CSG-complemento (presença da lacuna), com o contorno colinear e ortogonal. Para a mesma unidade mostramos (B) a curva de somação espacial (círculos pretos), assim como a resposta ao aumento do diâmetro interno da grade senoidal anular (círculos brancos). Os pontos representam a média  $\pm$  o erro padrão da média, sendo que as barras cinzas marcam a atividade espontânea média  $\pm$  o erro padrão da média de cada unidade.

O protocolo CSG-complemento, além de explorar o fenômeno perceptual de complemento, também nos permite verificar se o estímulo posicionado no centro permeia o contorno e vice-versa. A unidade representada na figura 8.2.4 mostra a curva em resposta à variação da direção do contorno (A, círculos pretos), mas também a resposta aos dois estímulos CSG-complemento (A, círculos cinzas), cada qual posicionado na devida defasagem de direção com o centro. Nela, vemos que a resposta na presença da lacuna separando centro e contorno foi maior (Wilcoxon,  $p < 0.05$ ). Esta unidade, especificamente, não apresentava zona incerta, como pode ser visto pela estimulação de CREC em A (cruz inferior), assim como pelas curvas em resposta ao aumento do estímulo (B, círculos pretos) e do diâmetro interno do

anel (B, círculos brancos). Logo, consideramos esta resposta um bom exemplo no qual deixamos de estimular a área inibitória do contorno. Neste caso não houve complemento. Porém, na maior parte das unidades que compõem nosso conjunto amostral, a resposta na presença da lacuna foi semelhante à resposta na sua ausência, como pode ser visto na figura 8.2.5.

Dentre as 28 unidades registradas com o protocolo CSG-complemento, somente 6/28 (21.4%) apresentaram diferença com e sem a lacuna quando o contorno encontrava-se colinear ao centro (Wilcoxon,  $p < 0.05$ , figura 8.2.5). Por outro lado, quando estes eram ortogonais, este número subiu para 12/28 (42.8%). Uma vez que a diferença de direção entre centro e contorno atribuiu ao estímulo uma maior saliência (*pop-out*), uma diferença entre estes dois resultados já era esperada. Geralmente, a presença da lacuna em unidades em que houve diferença de resposta induziu um aumento na atividade, mas nunca alcançando os níveis de resposta à estimulação de somente CRC, como pode ser visto na figura 8.2.6. Em A estão representadas as respostas unitárias normalizadas (média em C) para contornos colineares. Embora algumas unidades apresentem uma resposta menor na presença da lacuna, há uma forte tendência para que esta induza um aumento da atividade. O mesmo acontece quando o contorno é ortogonal (figura 8.2.6-B para as respostas unitárias normalizadas com média representada em D), embora a atividade seja maior (menor supressão) se comparada às respostas ao contorno colinear.

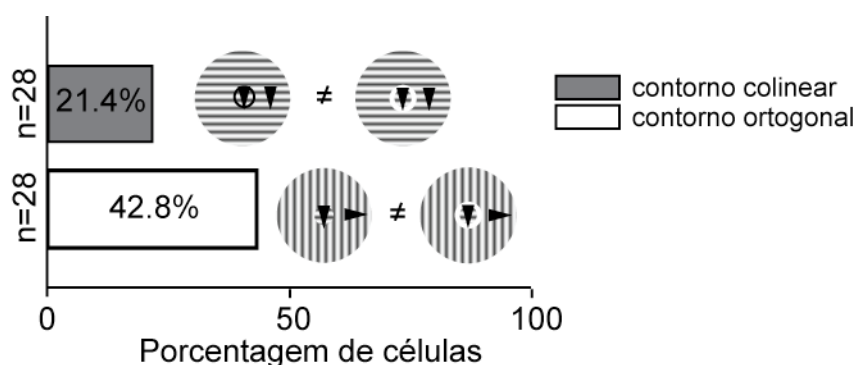


FIGURA 8.2.5: Prevalência populacional do efeito da lacuna isoluminante sobre o contorno colinear e ortogonal. As pontas de setas simbolizam a direção do movimento. Os anéis brancos separando centro e contorno representam as lacunas, sendo sua cor alterada somente na figura para facilitar a visualização. O mesmo foi feito com os anéis pretos separando o centro do contorno, usados somente na figura para facilitar a visualização quando ambos são colineares.

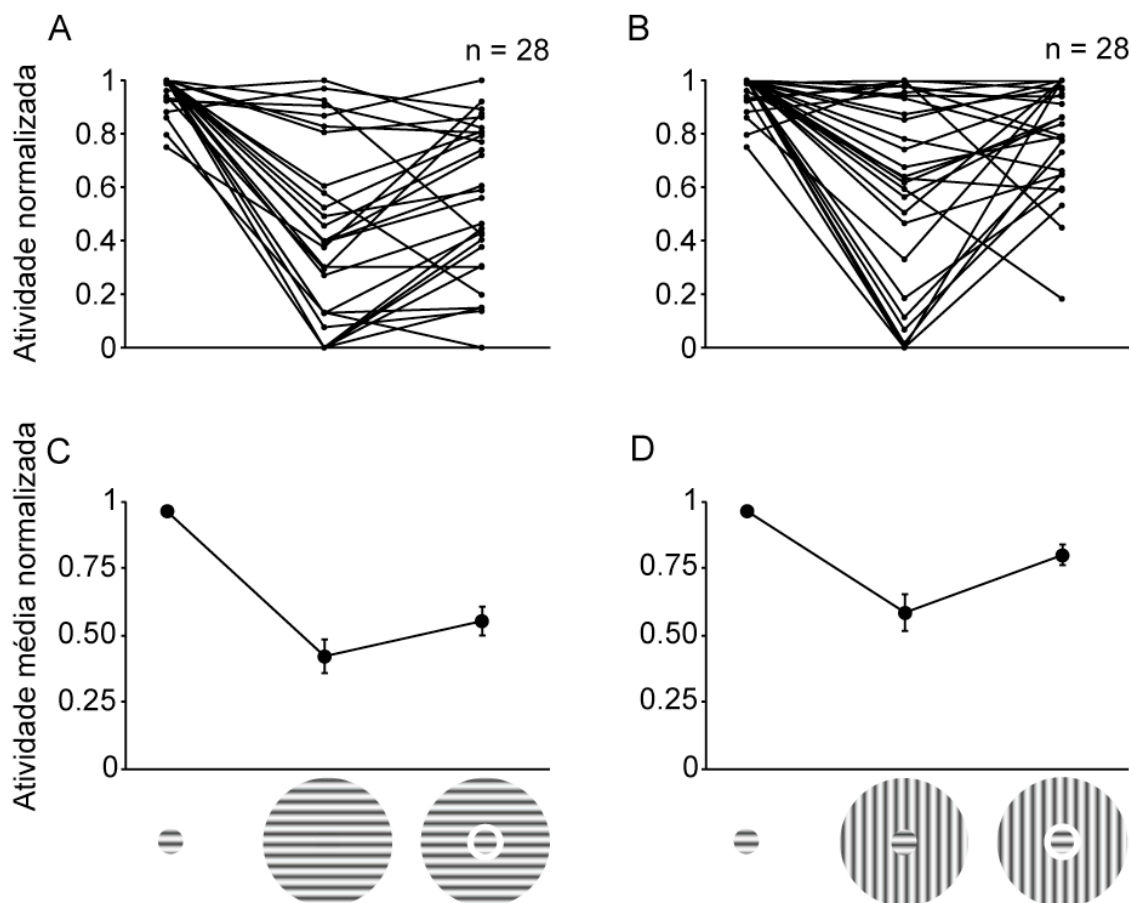


FIGURA 8.2.6: Comparação entre a atividade média normalizada de CRC com e sem o contorno na presença e ausência da lacuna em direções colinear (A) e ortogonal (B). As atividades unitárias encontram-se em A e B, e suas médias estão representadas em C e D respectivamente.

### 8.3. Discussão

Neste capítulo mostramos que, em neurônios do wulst visual, a direção do contorno altera a supressão que ele exerce sobre o centro. Contornos colineares induzem maior resposta, equivalente às induzidas pela estimulação do centro sozinho. Porém, estes valores não foram ultrapassados, não sendo observada facilitação. Além disso, a seletividade à direção do contorno está relacionada a um nível maior de supressão. A inserção de uma lacuna separando o centro do contorno não induziu diferença para a maior parte de nossos dados (78.6% quando colineares e 57.2% quando ortogonais), mostrando que o fenômeno perceptual de complemento pode ocorrer em neurônios do wulst visual.

Inicialmente, uma consideração metodológica deve ser feita com relação à quantificação da seletividade à direção. Visando comparar a seletividade à direção do contorno com a de todo o campo receptivo, avaliada através do índice de direcionalidade (*ID*), cogitamos o emprego de um índice

de seletividade à orientação (*ISO*) utilizando estatística circular, descrito na literatura para análises semelhantes (Jones *et al.*, 2002; Naito *et al.*, 2007; Girman e Lund, 2010):

$$ISO = \frac{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^N R(\theta_i) \sin(2\theta_i)\right)^2 + \left(\sum_{i=1}^N R(\theta_i) \cos(2\theta_i)\right)^2}}{\sum_{i=1}^N R(\theta_i)}$$

Porém, através de simulações, verificamos que somente uma resposta extremamente direcional apresentaria um valor significativo, não alcançado pela maior parte dos resultados do protocolo CSG. Assim, determinamos a seletividade à direção do contorno somente por sua modulação, baseada na significância de 95% do teste Kruskal-Wallis entre as 16 direções testadas.

Como vimos, algumas unidades consideradas direcionais, por apresentarem  $ID \geq 0.5$  variando a direção de centro e contorno juntos, não foram moduladas pela variação da direção do contorno com o centro mantido na direção preferida. O contrário também foi observado. Em um estudo anterior de nosso laboratório (Baron *et al.*, 2007), 88% das unidades foram moduladas pela direção, estimulando centro e contorno na mesma direção. Em nossos resultados, variando somente o contorno, 57.4% das unidades apresentaram tal modulação, um número um terço menor. Baseado nestas observações, podemos inferir que os mecanismos por trás da seletividade à direção do contorno possam ser distintos da seletividade à direção quando ambos centro e contorno são estimulados, sendo a modulação centro-contorno um provável responsável.

Nossos resultados mostram que a seletividade à direção do contorno pode estar relacionada à supressão resultante da modulação centro-contorno. De acordo com a literatura, a seletividade à orientação aumenta quando há estimulação concomitante de centro e contorno (Chen *et al.*, 2005; Xing *et al.*, 2005; Okamoto *et al.*, 2009). No wulst visual, este efeito também foi demonstrado por dados de nosso laboratório, comparando resultados provenientes de um trabalho utilizando grades senoidais com 6° de diâmetro (Baron *et al.*, 2007) e de tamanho adaptado à CRC (Amorim, 2011). Esta comparação baseou-se na largura de banda (LB), que representa a metade da largura da curva de seletividade à direção na metade de sua altura. A figura 8.3.1 mostra a maior distribuição dos valores de LB quando somente CRC foi estimulado (colunas cinzas).



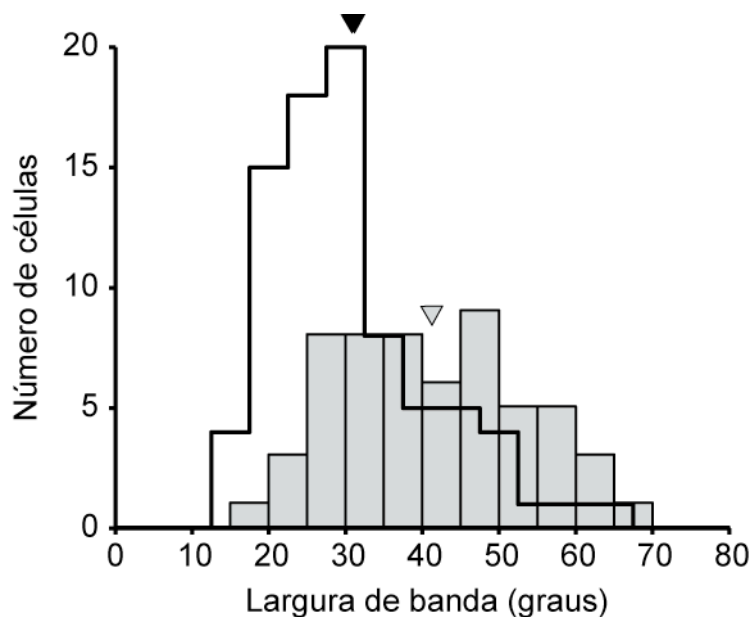


FIGURA 8.3.1: Distribuição dos valores de largura de banda (LB) para o contraste 90%. As barras cinzas reproduzem as distribuições de LB da dissertação de mestrado de Claudiana Souza de Amorim (média é indicado pela ponta de seta cinza), sendo a linha sólida proveniente de Baron (2007) (média é indicado pela ponta de seta preta) (Amorim, 2011).

Em gatos, a partir de grades senoidais estáticas, não foi vista uma variação da seletividade à orientação com relação à supressão, mesmo com o aumento desta seletividade na presença de estimulação do contorno (Chen *et al.*, 2005). Porém, utilizando estímulos em movimento, foi encontrado que células com maior supressão gerada pela modulação do contorno são mais seletivas à direção, sugerindo que a supressão do contorno pode contribuir para o aumento da discriminação da orientação do estímulo (Okamoto *et al.*, 2009). Em nossos dados, esta tendência pode ser visualizada pela diferença no nível de atividade em resposta às 16 direções diferentes do contorno, representada nos gráficos normalizados da figura 8.2.2. Além disso, o grau de supressão, baseado na diferença da atividade em resposta à estimulação de CRC sozinho e à estimulação quando CREC encontra-se com 0° de defasagem (primeiro ponto da curva em resposta às 16 direções diferentes do contorno), foi consideravelmente maior para as unidades com seletividade à direção do contorno (figura 8.2.2-A).

Embora tenhamos visto supressão gerada pela modulação do contorno, não observamos facilitação, qualificada pelo aumento da atividade na presença da estimulação de CREC a níveis superiores à atividade induzida pela estimulação de CRC sozinho. A facilitação gerada pela modulação de um contorno ortogonal à direção preferida da célula tem sido descrita na literatura para o córtex visual primários de mamíferos (Sillito *et al.*, 1995; Jones *et al.*,

2002; Cavanaugh *et al.*, 2002b, entre outros). Em primatas já foi até demonstrada a presença de tal atividade na ausência da estimulação do centro, ou seja, facilitação induzida pela estimulação de um anel cobrindo somente o contorno (Jones *et al.*, 2001). Em nossos dados, embora não tenhamos visto facilitação, a estimulação com um contorno ortogonal ao centro induziu uma diminuição da supressão. Em gatos, utilizando um estímulo semelhante, foi observada a mesma resposta (Sengpiel *et al.*, 1997), embora efeitos facilitatórios já tenham sido descritos para estes animais sob as mesmas condições (Sillito *et al.*, 1995). Um mecanismo proposto para explicar a existência de modulação da supressão pela orientação do estímulo envolve a presença de conexões interligando colunas que compartilham a mesma preferência de orientação ligadas a interneurônios inibitórios locais (Gilbert e Wiesel, 1989; Jones *et al.*, 2001 e 2002). Em corujas, já foi descrita a presença de colunas de orientação no wulst visual (Liu e Pettigrew, 2003). Em *Athene cunicularia*, especificamente, nosso grupo demonstrou a presença de inibição devido à orientação cruzada (*cross-inhibition*), mostrando que no wulst há regiões com preferência a orientações distintas que são interconectadas por projeções laterais inibitórias (Baron *et al.*, 2007).

Ainda neste capítulo, vimos que a presença de uma lacuna entre o centro e o contorno não alterou a resposta da maior parte dos neurônios do wulst visual. Este resultado já foi demonstrado na coruja *Tyto alba* tanto com um teste psicofísico quanto em registros unitários de neurônios do wulst (Nieder e Wagner, 1999). A estimulação com grades na presença de uma lacuna ou de sua contra-imagem, além de grades cuja fase fosse alternada, mostrou que estes neurônios respondem invariavelmente a contornos subjetivos, não a parâmetros locais dos elementos do estímulo que o induziram. Em mamíferos, a capacidade de integração de atributos locais em percepção global parece ser dependente de interações de longo alcance (Spillmann e Werner, 1996). Aparentemente, tal capacidade de processamento está presente no wulst visual de corujas, sugerindo que uma arquitetura cortical ordenada em camadas não é pré-requisito para a integração neuronal de longo alcance resultando em fenômenos perceptuais de alta ordem (Nieder e Wagner, 1999).

## 9. CAPÍTULO 6: Modulação centro-contorno em células simples e complexas

### 9.1. Apresentação

Desde a primeira classificação de campos receptivos do córtex visual primário (Hubel e Wiesel, 1962), vários métodos têm sido propostos visando explorar dois comportamentos distintos, conhecidos como simples e complexo. Atualmente, o mais utilizado destes métodos baseia-se na resposta a grades senoidais em movimento. Uma população expressiva de neurônios corticais responde às mudanças senoidais de luminância gerando uma resposta senoidal retificada, a qual é uma réplica linear bruta do estímulo, enquanto uma outra população responde aumentando sua taxa de disparo média (Alonso e Chen, 2009). Uma medida quantitativa da linearidade da resposta pode ser obtida através da análise de Fourier. A razão entre a frequência fundamental (F1) e a componente DC (F0) do sinal apresenta uma distribuição bimodal sobre a população de V1, correspondente às duas classes observadas por Hubel e Wiesel (Mechler e Ringach, 2002).

O mecanismo proposto inicialmente para explicar a dicotomia funcional destes neurônios baseava-se em um modelo hierárquico, no qual células simples recebem uma convergência de sinais provenientes do NGL, com campos receptivos alinhados, e projetam para células complexas que compartilham a mesma preferência de orientação (Martinez e Alonso, 2003b). Por outro lado, o recente desenvolvimento de modelos não-hierárquicos propõe que a distinção simples-complexa depende mais das forças e propriedades de integração de conexões cortico-corticais do que da distância sináptica do NGL (Bardy *et al.*, 2006). Estes novos modelos reacenderam a discussão acerca da classificação de campos receptivos em V1, já considerada parte do passado (Bair, 2005).

Este capítulo explora a classificação de células em simples e complexas, levando em consideração o balanço entre excitação e inibição observado quando o campo receptivo clássico e seu contorno são estimulados simultaneamente. Os resultados aqui apresentados foram analisados em colaboração com o Prof. João Paulo Machado de Sousa (CEFET/MG), aluno de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica sob orientação do Prof. Dr. Jerome Baron.

## 9.2. Resultados

A análise deste capítulo baseou-se nas repostas obtidas com o protocolo G. Embora tenhamos feito um estudo sobre o comportamento das 145 células registradas sob a mesma estimulação, para fins comparativos, optamos por aprofundar a investigação nas 86 unidades que compõem o grupo "supressão". Ao contrário dos resultados apresentados em capítulos anteriores, a variação de F1 e F0 em função do tamanho foi avaliada a partir de CRC, visto que o objetivo foi comparar as respostas quando somente ele era estimulado com repostas obtidas com a coestimulação de CREC. A classificação da unidade foi feita para a maior resposta celular, neste caso, uma célula foi considerada simples quando  $F1/F0$  da condição referente à CRC foi maior que 1 (ver metodologia). A determinação do tamanho do campo receptivo clássico foi feita pela análise dos dados brutos, uma vez que precisávamos da atividade ao longo do tempo para efetuar a classificação. Além disso, a janela de análise excluiu os primeiros 200ms de resposta à apresentação do estímulo, pois a presença do transiente incluiria um desvio na determinação da frequência fundamental.

Assim, seguindo o método clássico descrito na literatura (Movshon *et al.*, 1978a e 1978b; Skottun *et al.*, 1991), subtraímos a atividade espontânea da resposta analisada, afim de detectar especificamente a presença da modulação pela frequência temporal do estímulo. Logo, em casos onde a supressão resultante da estimulação concomitante de CRC e CREC era alta, os valores de F0 ficaram próximos de zero, em alguns casos até mesmo negativos.

O histograma da figura 9.2.1 mostra a distribuição de valores encontrados pela razão  $F1/F0$  das células do grupo "supressão". Nele, podemos visualizar a prevalência de células complexas em nossa amostra. Ao todo, 67/86 unidades apresentaram  $F1/F0$  menor que 1, sendo a mediana da população igual a 0.626. Na mesma figura estão exemplificados dois histogramas peri-estímulos da condição referente à CRC: à esquerda uma célula complexa e à direita uma célula simples. É importante ressaltar que ambos foram estimulados com a mesma frequência temporal de 2 hertz, tornando evidente a diferença na modulação senoidal da resposta. Porém, algumas células podem variar seu comportamento de acordo com o estímulo, como demonstrado a seguir.

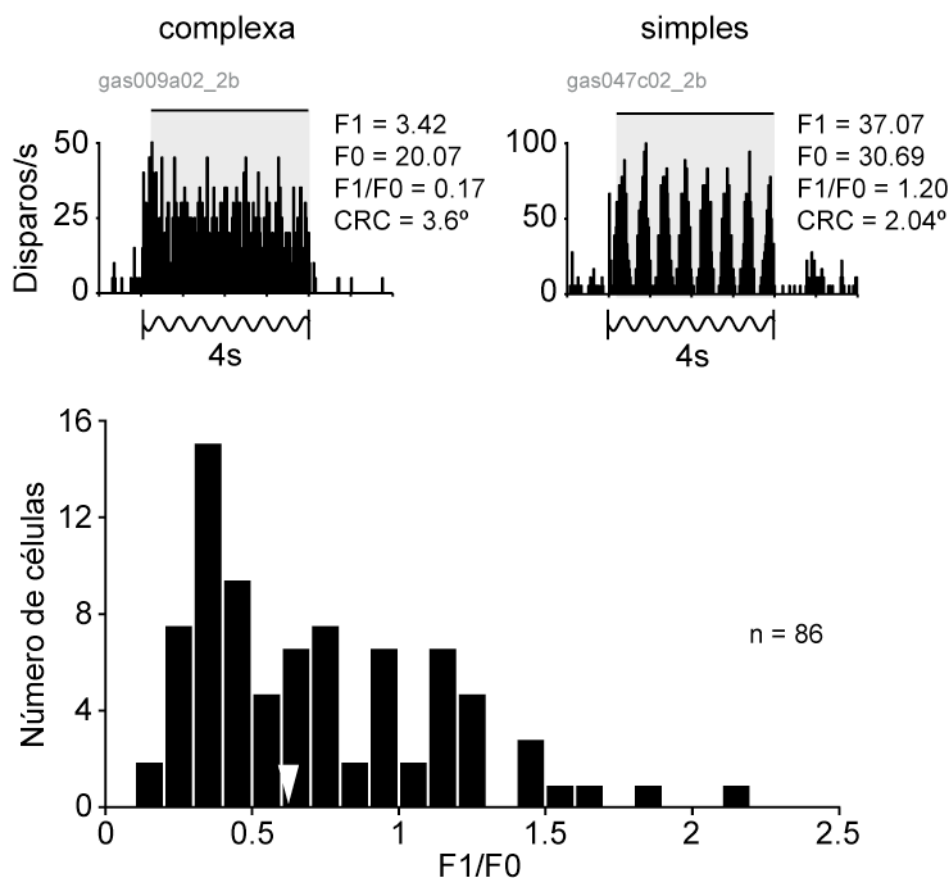


FIGURA 9.2.1: Histograma representando a distribuição populacional de F1/F0 na condição referente à CRC para as células do grupo "supressão". A seta branca indica a mediana, igual a 0.626, e o tamanho de bin utilizado foi igual a 0.1. Acima, histogramas peri-estímulos de uma célula complexa, à esquerda, e outra simples, à direita, ambos em resposta à estimulação de CRC. A área cinza representa a janela de análise, a qual excluiu os primeiros 200ms de estimulação, cujo tempo total (4s) foi representado pela senóide abaixo.

Como previamente mencionado, as células classificadas como simples e complexas não mostraram diferença nas análises descritas no capítulo 2. A figura 9.2.2-A mostra que não houve um padrão na distribuição de tamanhos de CRC para estes dois grupos. No gráfico, as células simples estão localizadas acima da linha quando F1/F0 de CRC é igual a 1, enquanto células complexas estão localizadas abaixo. O mesmo acontece para o índice de supressão (figura 9.2.2-B). Embora células complexas (abaixo da linha horizontal) tenham apresentado uma distribuição mais ampla, devemos considerar que o número de unidades neste subgrupo também foi maior. Assim, também não observamos padrões diferenciados entre as duas classes de células, simples e complexa, para o índice de supressão.

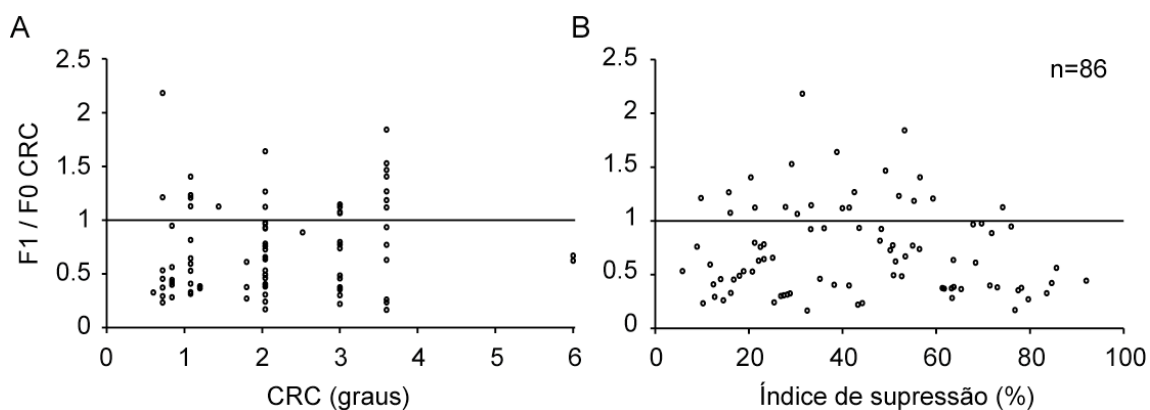


FIGURA 9.2.2: Relação entre a razão de F1 e F0 em CRC e o tamanho de CRC (A) e o índice de supressão (B). A linha horizontal, quando a ordenada é igual a 1, divide as células entre simples (acima na linha) e complexas (abaixo da linha).

A figura 9.2.3 faz um comparativo da resposta de três unidades ao aumento do tamanho do estímulo, a partir da estimulação de CRC. Em A, uma célula simples responde em fase (*phase locked*) com a grade senoidal em movimento, como demonstrado em seus histogramas peri-estímulos. A oscilação dos valores de F1 e de F0 para os diferentes tamanhos de estímulo desta mesma unidade podem ser vistas em D. No geral, as células simples apresentaram variações semelhantes destes dois parâmetros, ou seja, quando F0 diminuiu ou aumentou, F1 acompanhou a mudança. Já para uma célula complexa, cujos histogramas peri-estímulos em B evidenciam a não-linearidade da resposta à frequência de modulação da luminância do estímulo, ao avaliarmos as variações de F1 e F0 em diferentes tamanhos (figura 9.2.3-E) vemos que enquanto F1 sofreu pouca variação (até 20% da atividade total, avaliada segundo a normalização utilizando o máximo de F0 como "max" e o min de F1 como "min" segundo a equação  $[(x - \text{min}) / (\text{max} - \text{min})]$ ), os valores de F0 diminuíram consideravelmente. É importante ressaltar que nem todas as células complexas apresentaram tal comportamento (somente 9/67), mas que quando este foi vislumbrado, foi na resposta de células desta classe. Em algumas unidades, como a representada em 9.2.3-F, a diminuição de F0 é tanta que, a partir de certo ponto, F1 passa a ser maior. A esse fenômeno atribuímos o nome de "simplificação", pois uma célula que era complexa, quando parte de seu CREC era concomitantemente estimulado, passa a ser classificada como simples. Os histogramas peri-estímulos desta unidade (figura 9.2.3-C) mostram que sua resposta sofre modulação pela frequência temporal, embora não tanto quanto a célula simples em A. Esta modulação ocorre

especialmente para os tamanhos de estímulo igual a  $9^\circ$  e  $18^\circ$ , quando a classificação da célula é outra.

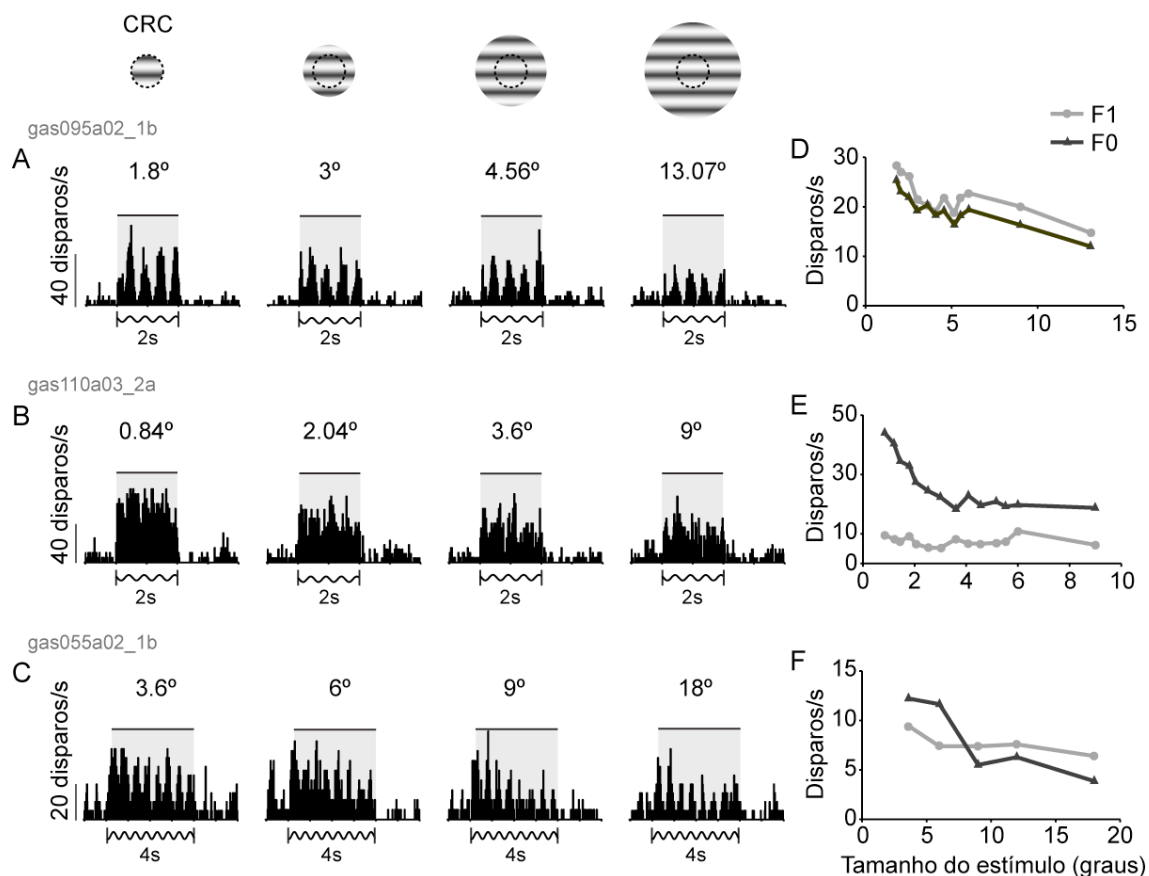


FIGURA 9.2.3: (A-C) Histogramas peri-estímulo de uma célula simples (A), uma complexa (B) e uma complexa que simplifica (C) em resposta à estimulação de CRC (coluna à esquerda) e de CRC em conjunto com CRC (demais colunas). A área cinza representa a janela de análise, a qual excluiu os primeiros 200ms de estimulação. O tempo total de estimulação (2 ou 4s) está representado pela seta abaixo. (D-F) Gráficos da variação de F1 (cinza claro) e F0 (cinza escuro) em resposta aos diferentes tamanhos de estímulo (primeiro ponto considerado CRC).

A variação de F1 e F0 para diferentes tamanhos de estímulo, quando não acontece em conjunto, ocorre principalmente para F0, enquanto F1 se mantém relativamente estável. Entretanto, algumas unidades mostraram um comportamento único de oscilação destas duas variáveis, exemplificados na figura 9.2.4. A classificação destas unidades foi feita com um estímulo do tamanho de CRC, representado pelo primeiro ponto de cada curva. Em A e B, duas células simples apresentam variações semelhantes para F1 e F0. Porém, em ambas as unidades houve uma queda dos valores de F1 em pontos específicos, chegando a valores inferiores aos de F0. A não ser para estes raros casos, mesmo assim em resposta a poucos tamanhos de estímulo, não observamos uma "complexificação" de células simples. Os gráficos 9.2.4-C e D mostram células complexas. Em C, os valores de F1 e F0 variaram juntos até o

ponto onde houve uma inversão e F1 passou a ser maior, logo havendo uma "simplificação" da resposta. Já em D, ambas as variáveis oscilaram juntas, exceto por uma brusca queda de F1 quando o tamanho do estímulo se aproximou a 5°.

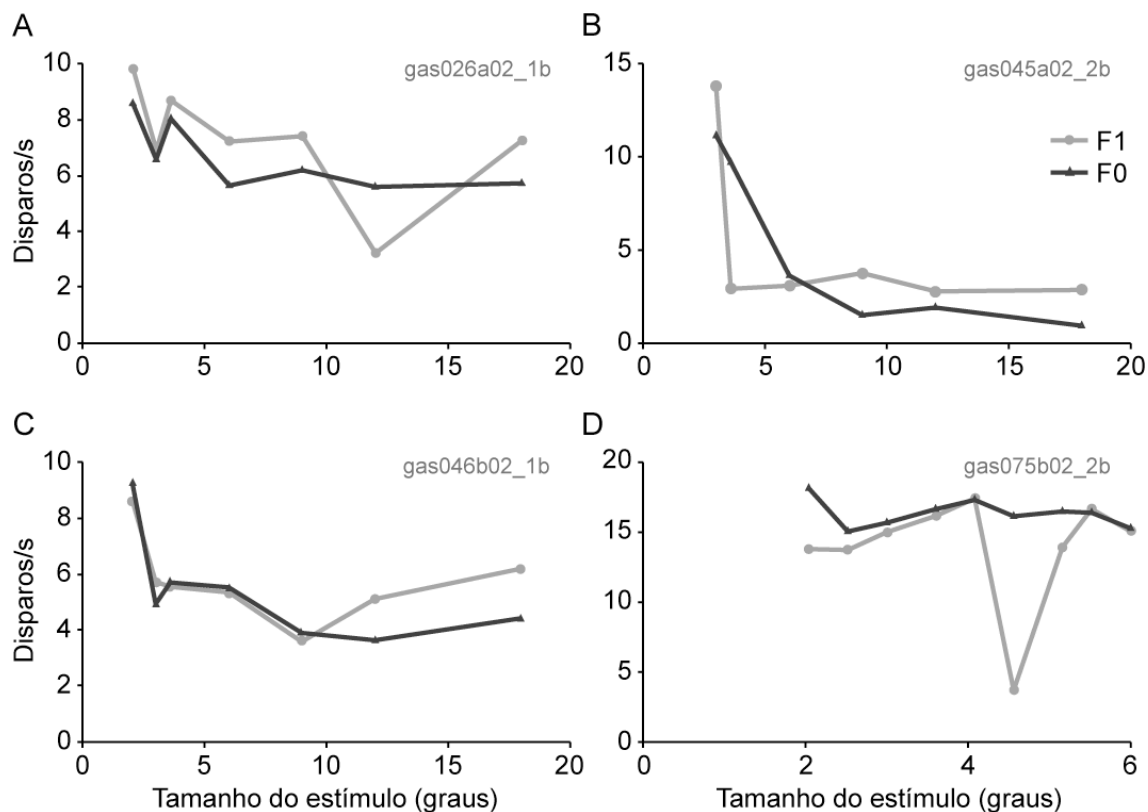


FIGURA 9.2.4: Gráficos da variação de F1 (cinza claro) e F0 (cinza escuro) em resposta aos diferentes tamanhos de estímulo (primeiro ponto considerado CRC) de unidades que apresentaram um comportamento único desta variação.

Visando comparar pontos distintos da curva de resposta ao tamanho do estímulo, a figura 9.2.5 relaciona a razão F1/F0 da atividade máxima (CRC) com esta mesma razão para o ponto onde a resposta apresenta maior supressão causada pela estimulação concomitante de CREC (mínimo de G, ilustrado na figura 5.2.11). As células representadas neste gráfico (n=66) são as do grupo "supressão" (n=86), das quais 9 unidades foram excluídas por apresentarem valores negativos de F1/F0 para o mínimo de G (lembrando que a atividade espontânea foi subtraída) e 11 unidades foram excluídas por apresentarem valores altos para a abscissa (por exemplo: 130, 8.24, 9.09, etc.). Optamos por não incluir estas unidades para melhor visualizarmos a área de maior densidade de dados, ou seja, entre 0 e 2. Além disso, as células exemplificadas na figura 9.2.5 foram representadas de acordo com sua porcentagem de supressão, agrupada em quatro categorias de 20% em 20%.



Quanto maior o círculo, maior IS, sendo que as células com mais de 80% de supressão (n=4) não foram representadas por estarem contidas no grupo de 20 unidades excluídas do gráfico.

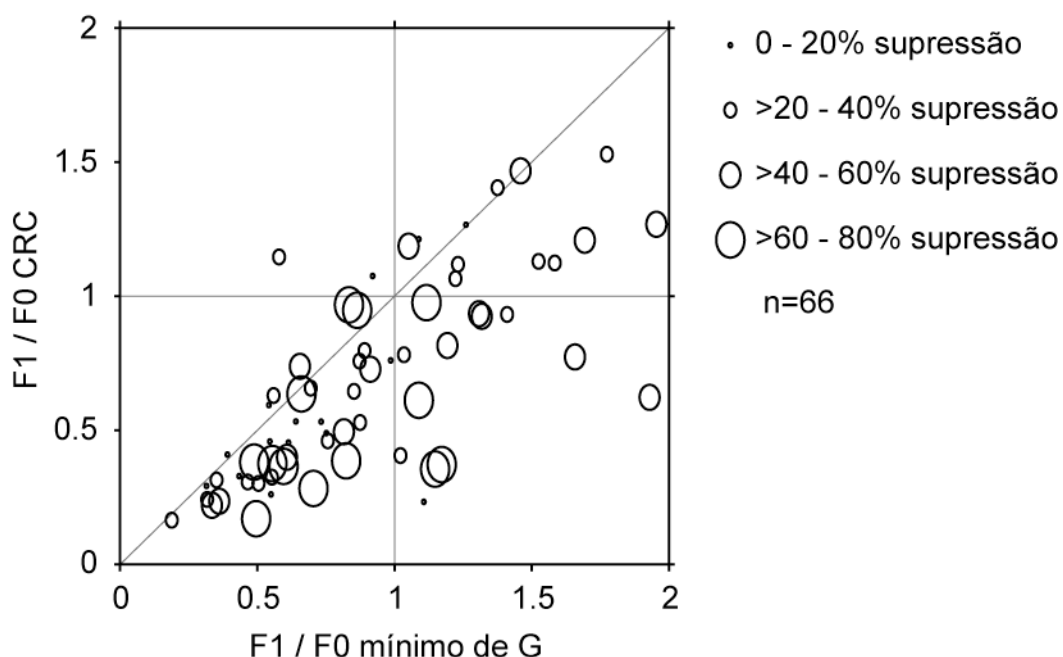


FIGURA 9.2.5: Relação de F1/F0 para dois pontos da curva de resposta ao tamanho: quando sua atividade foi máxima (CRC) e quando foi mínima (mínimo de G). As unidades foram divididas por seu índice de supressão (tamanhos de círculos diferentes). Foram excluídas do gráfico unidades cujo valor da abscissa foi negativo ou maior que 2.

O gráfico da figura 9.2.5 possui quatro quadrantes. O que representa os valores entre 0 e 1 para ambos os eixos contém as unidades que foram classificadas como complexas e que permaneceram nesta classe quando estimuladas com CREC. Ali estão localizadas a maior parte das unidades representadas no gráfico (39/66), cujas porcentagens de supressão foram bem distribuídas ao longo das quatro categorias. O quadrante que contém as unidades com valores de ambos os eixos maiores que 1 é o que representa as células que foram classificadas como simples e permaneceram como simples quando o contorno de CRC foi estimulado (12/66). Nele, as unidades pertencem principalmente a categorias de supressão intermediárias: 50% (6/12) na categoria entre 20 e 40% de supressão e 33% (4/12) na categoria entre 40 e 60% de supressão, sendo o restante (2/12) pertencente à categoria de supressão mais baixa. Já o quadrante superior à esquerda contém 2/66 unidades, de supressão até 40%, que foram classificadas como simples quando CRC foi estimulado sozinho e como complexas quando CREC foi simultaneamente estimulado. Uma destas células está representada na figura

9.2.4-A, sendo que o mínimo de G coincidiu com a condição em que F1 apresentou uma queda, ficando abaixo de F0. O último quadrante a ser analisado contém unidades que apresentaram F1/F0 em CRC menor que 1 e F1/F0 para o mínimo de G maior que 1, ou seja, as que apresentaram o comportamento de "simplificação". Este grupo, composto por 13/66 unidades de supressão variada, chegou a conter mais unidades do que as que foram classificadas como simples e se mantiveram nesta classe (quadrante acima).

### 9.3. Discussão

Em nossos dados, um número significativo de células (13/66) mostrou alteração de F1/F0 em resposta a diferentes tamanhos de estímulo. Tal alteração foi o suficiente para que uma célula ora classificada como complexa passasse a ser classificada como simples. Esta é a primeira vez que este fenômeno foi relatado em neurônios do wulst visual, embora já tenha sido descrito no córtex visual de gatos (Bardy *et al.*, 2006). Além da variável tamanho, foi observado que o uso de uma frequência espacial mais baixa do que a preferida poderia resultar em uma maior modulação pela fase em células complexas (Movshon *et al.*, 1978b; Skottun *et al.*, 1991). Porém, já foi demonstrado que o aumento do campo receptivo clássico não altera a preferência celular para frequência espacial (Tailby *et al.*, 2007), fazendo com que o fenômeno de simplificação decorrente de mudanças no tamanho do estímulo seja realmente atribuído a esta variável. Há estudos que relatam a ocorrência deste fenômeno para a variação do contraste, assim como em decorrência de adaptação (Crowder *et al.*, 2007). Estas evidências nos levam a perguntar se a célula é simples ou complexa, ou se ela está simples ou complexa.

A existência de duas populações distintas de células no córtex visual primário, independente da distribuição bimodal de F1/F0, foi desafiada por Mechler e Ringach (2002), influenciando vários estudos recentes. Dentre eles, utilizando registros intracelulares, foi demonstrado que as propriedades funcionais de neurônios em V1 não é fixa, mas uma adaptação dos parâmetros do estímulo, embora os autores não excluam a presença de diferentes classes de células corticais no que diz respeito a sua conectividade (Fournier *et al.*, 2011). Uma distribuição unimodal de F1/F0 já havia sido demonstrada em um

estudo onde se comparou o potencial de membrana com a taxa de disparo de neurônios da área 17 de gatos (Carandini e Ferster, 2000).

Acreditamos que, para avançar nos estudos da compreensão do sistema visual, é necessário conhecer melhor a estrutura dos campos receptivos do córtex visual primário, os quais apresentam um dinamismo maior do que se imaginava inicialmente. Compreender os fatores locais e globais da rede neural que modulam esta dinâmica é um próximo passo que já começa a mostrar avanços (Fournier *et al.*, 2011). No caso de neurônios do wulst visual, este foi o primeiro trabalho de nosso grupo a mostrar o fenômeno de simplificação, utilizando a variação da resposta resultante do efeito do tamanho do estímulo. As perspectivas de nosso grupo incluem não só o aprofundamento das análises acerca do fenômeno, mas também sua exploração através de diversas variáveis, assim como diversas combinações delas. Ainda precisamos conhecer quais fatores alteram a dinâmica de F1 e F0 para compreender o significado perceptual da mudança da intensidade com a qual a fase modula a resposta. Aparentemente esta pode estar relacionada à eficiência da transmissão da informação (Bardy *et al.*, 2006).

## 10. DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo em neurônios do wulst visual da coruja mostrou que a supressão resultante da estimulação concomitante de centro e contorno por estímulos iso-direcionados/orientados é um fenômeno robusto, presente na maioria das células (aproximadamente 88%). Esta supressão, relacionada à proporção espacial destas duas áreas, aparece logo após o início da resposta. O tamanho de CRC nestes neurônios não é invariante, sendo moderadamente maior para o baixo contraste, além de haver uma tendência da supressão ser menor para tamanhos maiores de campo receptivo. No geral, a estimulação de CREC sozinho induziu respostas semelhantes à atividade espontânea, mas a variação de sua direção na presença da estimulação de CRC alterou os níveis de supressão. Embora não tenhamos observado facilitação para o contorno ortogonal, houve uma diminuição da supressão. Foi observado o fenômeno perceptual de complemento, assim como a mudança da classificação simples/complexa em função do tamanho do estímulo.

Nosso trabalho mostra que, embora várias características funcionais sejam compartilhadas entre neurônios do wulst visual e os do córtex visual primário de mamíferos, algumas diferenças com relação às especificidades da modulação centro-contorno foram encontradas. Os valores relativos ao tamanho de CRC, a razão CREC/CRC, o índice de supressão, assim como sua prevalência, foram muito semelhantes aos descritos para os neurônios de V1 de primatas (Jones *et al.*, 2001; Sceniak *et al.*, 2001; Cavanaugh *et al.*, 2002a; Van Den Bergh *et al.*, 2010). Por outro lado, a tendência da supressão ser menor para tamanhos maiores de campo receptivo, foi observada em gatos (Song e Li, 2008; Wang, 2009), mas não em primatas (Sceniak *et al.*, 1999; Cavanaugh *et al.*, 2002a). Além disso, a supressão encontrada na resposta quando centro e contorno têm a mesma direção aparece somente no início da resposta, de maneira semelhante à supressão generalizada observada em mamíferos (Nothdurft *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2011). Uma atividade supressiva tardia, que estaria associada a especificidades modulatórias, não foi encontrada em nossos resultados. Ainda, vários estudos em primatas (Sillito *et al.*, 1995; Jones *et al.*, 2002; Cavanaugh *et al.*, 2002b) mostraram a presença de efeitos facilitatórios para o contorno ortogonal, ao contrário do que acontece com neurônios do wulst. As diferenças encontradas utilizando animais

experimentais distintos, cujos sistemas visuais são funcionalmente análogos, são extremamente ricas para a compreensão da natureza da modulação centro-contorno. No entanto, para que possamos realmente contribuir para a compreensão do fenômeno através de comparações entre os modelos, é necessário, primeiro, conhecer seus mecanismos no animal experimental utilizado por nós.

Em corujas, há relatos sobre a presença de supressão pelo contorno nas camadas intermediária e profunda do teto óptico (Mysore *et al.*, 2010), assim como em núcleos mesencefálicos, como o núcleo istmo parvocelular (Asadollahi *et al.*, 2010 e 2011). O teto óptico (TO), referente ao colículo superior em mamíferos, é uma área de integração multisensorial, crucial para o direcionamento do olhar e a seleção da atenção (Knudsen, 2011). Em um estudo nesta área (Mysore *et al.*, 2010), foi observado que durante o processo de seleção da atenção há competição entre os estímulos, influenciada pela saliência envolvendo inclusive diferentes modalidades sensoriais. A competição entre um estímulo em CREC suprimiu ou até eliminou completamente a atividade evocada por outro estímulo dentro de CRC. Além disso, estes autores verificaram que a força de inibição de um dado neurônio variou com a localização do estímulo competidor, sugerindo a presença de uma rede de inibição em que cada elemento representa uma distinta região do espaço exercendo determinada eficiência inibitória. Assim, estes estudos acabam reforçando a noção da presença de um mapa de saliência no TO de corujas.

Trabalhos do mesmo grupo revelaram a existência de regras de prioridade de análise no TO (Mysore *et al.*, 2011). Os fatores que contribuem para o estabelecimento desta prioridade são a saliência física do estímulo e sua relevância comportamental, ambos representados em neurônios desta área (Mysore e Knudsen, 2011a). De fato, nestas células as respostas foram suprimidas quando estímulos posicionados em CREC superaram a saliência de estímulos dentro de CRC, utilizando um mecanismo semelhante a um interruptor (*switch-like*, Mysore *et al.*, 2011), mostrando a existência de uma categorização do estímulo de acordo com sua saliência (Mysore e Knudsen, 2011b). O núcleo istmo parvocelular (NIP), no mesencéfalo, é um núcleo colinérgico que, na coruja, compartilha conexões recíprocas com o TO (Wylie *et al.*, 2009). Neste núcleo também foram registrados neurônios que são suprimidos por estímulos de maior saliência em CREC, utilizando um

mecanismo semelhante a TO (maneira *switch-like*, Asadollahi *et al.*, 2010). É possível que a atividade em NIP contribua, pelo menos em parte, para uma resposta semelhante à de um interruptor no TO (Mysore e Knudsen, 2011a). Ainda, é possível que a supressão observada no TO e em NIP esteja relacionada à observada por nós no wulst.

É conhecida a projeção da camada HA do wulst para o TO (Karten *et al.*, 1973; Bravo e Pettigrew, 1981; Shimizu *et al.*, 1995; Pettigrew, 2004). No TO da coruja foi visto que um estímulo competidor localizado a mais de 15° a esquerda de um estímulo em CRC no hemisfério oposto, em uma área onde não há representação do mesmo lado do cérebro (Knudsen, 1982), induziu supressão (Mysore *et al.*, 2010). Os autores atribuíram esta supressão a influências inibitórias provenientes do lado oposto do cérebro. Porém, foi demonstrado que há um desencontro topográfico entre projeções ipsilateral e contralateral do wulst para o TO, com posições simétricas espelhadas a 20° ipsilateral e contralateral ao meridiano vertical representado em parte do TO (Pettigrew, 2004), possibilitando a hipótese que a atividade supressora gerada pela estimulação de CREC no TO pode ser, pelo menos em parte, proveniente do wulst. Além disso, observando os gráficos do tipo "raster" mostrados em Mysore (2010 e 2011), é visível uma latência de resposta consideravelmente maior em neurônios do TO do que as observadas por nós no wulst visual. Associada às evidências morfo-funcionais, e considerando diferenças na estimulação, pode ser que esta diferença na latência reflita o caminho mais longo que o sinal percorre até chegar ao TO se comparado ao wulst, embora quantificações mais precisas sejam necessárias. Logo, acreditamos que a modulação centro-contorno observada em neurônios do wulst visual está funcionalmente envolvida com a saliência perceptual descrita no TO. Não descartamos a possibilidade que a atividade observada no TO seja processada em paralelo e de maneira independente pela via tectofugal, podendo inclusive participar dos efeitos observados no wulst. Assim como evidências sugerem, a via visual tectofugal de aves, ao invés de representar uma herança vestigial de ancestrais não-mamaliformes, pode ser uma parceira inseparável da via talamofugal na análise da informação visual (Karten *et al.*, 1973).

Além de explorar o possível papel funcional da modulação centro-contorno, nossos resultados permitem algumas considerações biofísicas. Há um questionamento acerca de uma inibição tônica estar presente sobre o

centro mesmo na ausência da estimulação do contorno (Jones *et al.*, 2002). Porém, a ausência de respostas facilitatórias em nossos dados, utilizando um protocolo no qual este efeito é visualizado em neurônios do córtex visual primário de mamíferos, mostra que talvez a resposta à estimulação de CRC sozinho otimizado esteja saturada. Devemos considerar que tal fenômeno pode variar com o critério utilizado para a definição da extensão de CRC. Por exemplo, Jones e colaboradores (2002) observaram facilitação quando o estímulo era posicionado mais distante de CRC, ou seja, fora de uma possível zona incerta. No entanto, nem mesmo na presença da lacuna observamos uma facilitação significativa comparando a resposta à estimulação de CRC sozinho e durante a estimulação concomitante de CREC ortogonal. Ainda, tendo em vista a proporção de unidades com zona incerta em nossos dados (10/38), haveria a possibilidade de ver facilitação caso o empecilho para observá-la fosse somente a região espacial a ser estimulada. Como é possível que a excitação em CRC tenha sido máxima, devida a uma possível saturação, nos perguntamos se em CREC a resposta supressiva representou uma diminuição da excitação ou um aumento da inibição.

Em um estudo em neurônios da área 17 de gatos (Ozeki *et al.*, 2004), o bloqueio de receptores GABA<sub>A</sub> através de iontoforese com bicuculina mostrou que as curvas de resposta em função do tamanho do estímulo não mudaram de formato, havendo somente uma redução da atividade. Logo, a supressão gerada pelo aumento do tamanho provém tanto da redução da excitação quanto da inibição. Este resultado indica que a supressão resultante da coestimulação do contorno é um fenômeno iniciado em áreas subcorticais. O mesmo grupo mostrou, em seguida, que neurônios do NGL apresentam as propriedades básicas da supressão gerada pelo contorno visualizadas na área 17, incluindo seletividade para orientação (Naito *et al.*, 2007). Há evidências que tal seletividade seja, até mesmo, proveniente da retina (Shou *et al.*, 2000). Em ratos, células ganglionares sem seletividade para orientação mostraram uma forte modulação dependente da orientação (Girman e Lund, 2010). Neste caso, centro e contorno ortogonais induziram facilitação, independente de qual fosse sua orientação.

O fenômeno de supressão gerada pela orientação cruzada (*cross-orientation suppression*) resulta da sobreposição de duas grades ortogonais, sendo uma mantida na orientação preferida. Um neurônio de V1 típico

responde intensamente às barras na orientação preferida, se comparado às demais orientações (Freeman *et al.*, 2002). Inicialmente pensava-se que este fenômeno era restrito a neurônios corticais, mas Freeman e colaboradores (2002) demonstraram que ele parece se originar em neurônios do tálamo. O uso de padrões xadrez (*plaids*) é considerado uma forma de se abordar a supressão pela orientação cruzada, já demonstrada por nosso grupo em neurônios do wulst (Baron *et al.*, 2007). Embora o wulst visual apresente a circuitaria capaz de modular este fenômeno, como explicitamos no capítulo 5, ainda desconhecemos o quanto ele depende de conexões alimentadas à jusante. Assim, seria de grande interesse investir em estudos sobre seletividade à orientação e supressão gerada pela coestimulação do contorno em neurônios do NGL da coruja, uma vez que há indícios na literatura e em nossos dados (capítulo 3) que este estágio do processamento visual pode estar envolvido na origem destes fenômenos. Outros estudos, utilizando a estimulação de regiões específicas do contorno, considerando o formato de CRC, além de uma caracterização anatômica detalhada, através do uso de traçadores, poderiam também ajudar na compreensão da modulação centro-contorno.



## 11. CONCLUSÃO

Os resultados aqui demonstrados nos permitem concluir que a modulação centro-contorno é um fenômeno robusto em neurônios do wulst visual da coruja *Athene cunicularia*. Esta modulação apresenta características estímulo-específicas, como a supressão induzida pela coestimulação do contorno dependendo de sua direção relativa ao centro, e a alteração do tamanho do campo receptivo clássico em função do contraste. Logo, podemos afirmar que a dinâmica do campo receptivo visual é um aspecto evolutivamente conservado no telencéfalo de vertebrados.

## 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBRIGHT, T. D.; STONER, G. R. Contextual influences on visual processing. **Annual Review of Neuroscience**, v. 25, p. 339–379, 2002.
2. ALITTO, H. J.; USREY, W. M. Origin and dynamics of extraclassical suppression in the lateral geniculate nucleus of the macaque monkey. **Neuron**, v. 57, n. 1, p. 135–146, 2008.
3. ALLMAN, J.; MIEZIN, F.; MCGUINNESS, E. Stimulus specific responses from beyond the classical receptive field: neurophysiological mechanisms for local-global comparisons in visual neurons. **Annual Review of Neuroscience**, v. 8, p. 407–430, 1985.
4. ALONSO, J.-M.; CHEN, Y. Receptive field. **Scholarpedia**, v. 4, n. 1, p. 5393, 2009.
5. AMORIM, C. S. **INVARIÂNCIA AO CONTRASTE NO WULST VISUAL DA CORUJA-BURAQUEIRA**, Athene cunicularia. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
6. ANDRIESSEN, J. J.; BOUMA, H. Eccentric vision: adverse interactions between line segments. **Vision Research**, v. 16, n. 1, p. 71–78, 1976.
7. ANGELUCCI, A.; LEVITT, J. B.; WALTON, E. J. S.; et al. Circuits for local and global signal integration in primary visual cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 19, p. 8633–8646, 2002.
8. ANGELUCCI, A.; BULLIER, J. Reaching beyond the classical receptive field of V1 neurons: horizontal or feedback axons? **Journal of Physiology-Paris**, v. 97, n. 2-3, p. 141–154, 2003.
9. ASADOLLAHI, A.; MYSORE, S. P.; KNUDSEN, E. I. Stimulus-driven competition in a cholinergic midbrain nucleus. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 7, p. 889–895, 2010.
10. ASADOLLAHI, A.; MYSORE, S. P.; KNUDSEN, E. I. Rules of competitive stimulus selection in a cholinergic isthmic nucleus of the owl midbrain. **The Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 16, p. 6088–6097, 2011.
11. BAIR, W. Visual receptive field organization. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 15, n. 4, p. 459–464, 2005.
12. BAIR, W.; CAVANAUGH, J. R.; MOVSHON, J. A. Time course and time-distance relationships for surround suppression in macaque V1

- neurons. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 20, p. 7690–7701, 2003.
13. BARDY, C.; HUANG, J. Y.; WANG, C.; FITZGIBBON, T.; DREHER, B. 'Simplification' of responses of complex cells in cat striate cortex: suppressive surrounds and “feedback” inactivation. **The Journal of physiology**, v. 574, n. Pt 3, p. 731–750, 2006.
  14. BARLOW, H. B.; BLAKEMORE, C.; PETTIGREW, J. D. The neural mechanism of binocular depth discrimination. **The Journal of physiology**, v. 193, n. 2, p. 327–342, 1967.
  15. BARON, J.; PINTO, L.; DIAS, M. O.; LIMA, B.; NEUENSCHWANDER, S. Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. **The European Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 7, p. 1950–1968, 2007.
  16. BRAVO, H.; PETTIGREW, J. D. The distribution of neurons projecting from the retina and visual cortex to the thalamus and tectum opticum of the barn owl, *Tyto alba*, and the burrowing owl, *Speotyto cunicularia*. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 199, n. 3, p. 419–441, 1981.
  17. BROOKE, M.; HANLEY, S.; LAUGHLIN, S. The scaling of eye size with body mass in birds. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, v. 266, n. 1417, p. 405–412, 1999.
  18. BURTON, R. F. The scaling of eye size in adult birds: relationship to brain, head and body sizes. **Vision Research**, v. 48, n. 22, p. 2345–2351, 2008.
  19. CARANDINI, M.; FERSTER, D. Membrane Potential and Firing Rate in Cat Primary Visual Cortex, **The Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 470-484, 2000.
  20. CASTELLO-BRANCO, E. C.; MAHECHA, G. A. B.; BARON, J.; NOGUEIRA, J. C. Variação Celular da Retina de Duas Corujas em Abordagem Comparativa Funcional. **Terceiro Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFMG**, 2009.
  21. CAVANAUGH, J. R.; BAIR, W.; MOVSHON, J. A. Nature and interaction of signals from the receptive field center and surround in macaque V1 neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 88, n. 5, p. 2530–2546, 2002a.
  22. CAVANAUGH, J. R.; BAIR, W.; MOVSHON, J. A. Selectivity and spatial

- distribution of signals from the receptive field surround in macaque V1 neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 88, n. 5, p. 2547–2556, 2002b.
23. CHEN, G.; DAN, Y.; LI, C.-Y. Stimulation of non-classical receptive field enhances orientation selectivity in the cat. **The Journal of Physiology**, v. 564, n. Pt 1, p. 233–243, 2005.
  24. COOPER, M. L.; PETTIGREW, J. D. A neurophysiological determination of the vertical horopter in the cat and owl. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 184, n. 1, p. 1–26, 1979.
  25. CROWDER, N. A.; VAN KLEEF, J.; DREHER, B.; IBBOTSON, M. R. Complex cells increase their phase sensitivity at low contrasts and following adaptation. **Journal of Neurophysiology**, v. 98, n. 3, p. 1155–1166, 2007.
  26. DAS, A.; GILBERT, C. D. Topography of contextual modulations mediated by short-range interactions in primary visual cortex. **Nature**, v. 399, n. 6737, p. 655–661, 1999.
  27. DE VALOIS, R. L.; ALBRECHT, D. G.; THORELL, L. G. Spatial frequency selectivity of cells in macaque visual cortex. **Vision Research**, v. 22, n. 5, p. 545–559, 1982.
  28. DE VALOIS, R. L.; THORELL, L. G.; ALBRECHT, D. G. Periodicity of striate-cortex-cell receptive fields. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 2, n. 7, p. 1115–1123, 1985.
  29. DEANGELIS, G. C.; FREEMAN, R. D.; OHZAWA, I. Length and width tuning of neurons in the cat's primary visual cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 71, n. 1, p. 347–374, 1994.
  30. DRAGOI, V.; SUR, M. Dynamic properties of recurrent inhibition in primary visual cortex: contrast and orientation dependence of contextual effects. **Journal of Neurophysiology**, v. 83, n. 2, p. 1019–1030, 2000.
  31. EINEVOLL, G.; HEPLESSER. Response of the difference-of-Gaussians model to circular drifting-grating patches. **Visual Neuroscience**, v. 22, p. 437–446, 2005.
  32. EMERY, N. J. Cognitive ornithology: the evolution of avian intelligence. **Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences**, v. 361, n. 1465, p. 23–43, 2006.
  33. FEE, M. S.; MITRA, P. P.; KLEINFELD, D. Automatic sorting of multiple

- unit neuronal signals in the presence of anisotropic and non-Gaussian variability. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 69, n. 2, p. 175–188, 1996.
34. FIORANI JÚNIOR, M.; ROSA, M. G.; GATTASS, R.; ROCHA-MIRANDA, C. E. Dynamic surrounds of receptive fields in primate striate cortex: a physiological basis for perceptual completion? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 18, p. 8547–8551, 1992.
  35. FITZPATRICK, D. Seeing beyond the receptive field in primary visual cortex. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, n. 4, p. 438–443, 2000.
  36. FOURNIER, J.; MONIER, C.; PANANCEAU, M.; FRÉGNAC, Y. Adaptation of the simple or complex nature of V1 receptive fields to visual statistics. **Nature Neuroscience**, 2011.
  37. FREEMAN, T. C. B.; DURAND, S.; KIPER, D. C.; CARANDINI, M. Suppression without inhibition in visual cortex. **Neuron**, v. 35, n. 4, p. 759–771, 2002.
  38. GILBERT, C. D.; WIESEL, T. N. Columnar specificity of intrinsic horizontal and corticocortical connections in cat visual cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 9, n. 7, p. 2432–2442, 1989.
  39. GILBERT, C.; ITO, M.; KAPADIA, M.; WESTHEIMER, G. Interactions between attention, context and learning in primary visual cortex. **Vision Research**, v. 40, n. 10-12, p. 1217–1226, 2000.
  40. GIRARD, P.; HUPÉ, J. M.; BULLIER, J. Feedforward and feedback connections between areas V1 and V2 of the monkey have similar rapid conduction velocities. **Journal of Neurophysiology**, v. 85, n. 3, p. 1328–1331, 2001.
  41. GIRMAN, S. V.; SAUVÉ, Y.; LUND, R. D. Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 82, n. 1, p. 301–311, 1999.
  42. GIRMAN, S.; LUND, R. Orientation-specific modulation of rat retinal ganglion cell responses and its dependence on relative orientations of the center and surround gratings. **Journal of Neurophysiology**, v. 104, n. 6, p. 2951–2962, 2010.
  43. HARTLINE, H. K. The response of single optic nerve fibers of the

- vertebrate eye to illumination of the retina. **The American Journal of Physiology**, v. 121, p. 400–415, 1938.
44. HUBEL, D. H. Single unit activity in lateral geniculate body and optic tract of unrestrained cats. **The Journal of Physiology**, v. 150, n. 1, p. 91–104, 1960.
  45. HUBEL, D. H.; WIESEL, T. N. Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. **The Journal of Physiology**, v. 195, n. 1, p. 215–243, 1968.
  46. HUBEL, D.; WIESEL, T. Receptive Fields of Single Neurones in the Cats Striate Cortex. **Journal of Physiology-London**, v. 148, n. 3, p. 574–591, 1959.
  47. HUBEL, D.; WIESEL, T. Receptive Fields, Binocular Interaction and Functional Architecture in Cats Visual Cortex. **Journal of Physiology-London**, v. 160, n. 1, p. 106–&, 1962.
  48. HUNTER, J. N.; BORN, R. T. Stimulus-Dependent Modulation of Suppressive Influences in MT. **The Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 2, p. 678–686, 2011.
  49. HUPÉ, J. M.; JAMES, A. C.; PAYNE, B. R.; et al. Cortical feedback improves discrimination between figure and background by V1, V2 and V3 neurons. **Nature**, v. 394, n. 6695, p. 784–787, 1998.
  50. IWANIUK, A. N.; HEESY, C. P.; HALL, M. I.; WYLIE, D. R. W. Relative Wulst volume is correlated with orbit orientation and binocular visual field in birds. **Journal of comparative physiology A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology**, v. 194, n. 3, p. 267–282, 2008.
  51. IWANIUK, A. N.; HURD, P. L. The evolution of cerebrotypes in birds. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 65, n. 4, p. 215–230, 2005.
  52. JONES, H. E.; GRIEVE, K. L.; WANG, W.; SILLITO, A. M. Surround suppression in primate V1. **Journal of Neurophysiology**, v. 86, n. 4, p. 2011–2028, 2001.
  53. JONES, H. E.; WANG, W.; SILLITO, A. M. Spatial organization and magnitude of orientation contrast interactions in primate V1. **Journal of Neurophysiology**, v. 88, n. 5, p. 2796–2808, 2002.
  54. JONES, M. P.; PIERCE, K. E. J.; 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, 2007.

55. KANIZSA, G. **Organization in Vision: Essays on Gestalt Perception**. Praeger Publishers, 1979.
56. KAPADIA, M. K.; ITO, M.; GILBERT, C. D.; WESTHEIMER, G. Improvement in visual sensitivity by changes in local context: parallel studies in human observers and in V1 of alert monkeys. **Neuron**, v. 15, n. 4, p. 843–856, 1995.
57. KAPADIA, M. K.; WESTHEIMER, G.; GILBERT, C. D. Dynamics of spatial summation in primary visual cortex of alert monkeys. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 21, p. 12073–12078, 1999.
58. KARTEN, H. J.; HODOS, W.; NAUTA, W. J.; REVZIN, A. M. Neural connections of the “visual wulst” of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). **The Journal of Comparative Neurology**, v. 150, n. 3, p. 253–278, 1973.
59. KASCHUBE, M.; SCHNABEL, M.; LÖWEL, S.; et al. Universality in the evolution of orientation columns in the visual cortex. **Science**, v. 330, n. 6007, p. 1113–1116, 2010.
60. KNIERIM, J. J.; VAN ESSEN, D. C. Neuronal responses to static texture patterns in area V1 of the alert macaque monkey. **Journal of Neurophysiology**, v. 67, n. 4, p. 961–980, 1992.
61. KNUDSEN, E. I. Auditory and visual maps of space in the optic tectum of the owl. **The Journal of Neuroscience**, v. 2, n. 9, p. 1177–1194, 1982.
62. KNUDSEN, E. I. Control from below: the role of a midbrain network in spatial attention. **European Journal of Neuroscience**, Control from below. v. 33, n. 11, p. 1961–1972, 2011.
63. KONISHI, M. Study of sound localization by owls and its relevance to humans. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 2000.
64. KUFFLER, S. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. **Journal of Neurophysiology**, v. 16, n. 1, p. 37–68, 1953.
65. LAMME, V. A. The neurophysiology of figure-ground segregation in primary visual cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 2, p. 1605–1615, 1995.

66. LEVITT, J. B.; LUND, J. S. Contrast dependence of contextual effects in primate visual cortex. **Nature**, v. 387, n. 6628, p. 73–76, 1997.
67. LIU, G. B.; 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, 2003.
68. LIU, Y.-J.; HASHEMI-NEZHAD, M.; LYON, D. C. Dynamics of extraclassical surround modulation in three types of V1 neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 105, n. 3, p. 1306–1317, 2011.
69. MAFFEI, L.; FIORENTINI, A. The unresponsive regions of visual cortical receptive fields. **Vision Research**, v. 16, n. 10, p. 1131–IN5, 1976.
70. MARDER, E. Non-mammalian models for studying neural development and function. **Nature**, v. 417, n. 6886, p. 318–321, 2002.
71. MARTIN, D. Selected Aspects of Burrowing Owl Ecology and Behavior. **Condor**, v. 75, n. 4, p. 446–456, 1973.
72. MARTINEZ, L. M.; ALONSO, J.-M. Complex receptive fields in primary visual cortex. **The Neuroscientist**, v. 9, n. 5, p. 317–331, 2003.
73. MATHWORKS. **Curve Fitting Toolbox for Matlab Version 1**. MATHWORKS INC, 2006.
74. MECHLER, F.; RINGACH, D. L. On the classification of simple and complex cells. **Vision Research**, v. 42, n. 8, p. 1017–1033, 2002.
75. MEDINA, L.; REINER, A. Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? **Trends in Neurosciences**, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2000.
76. MOVSHON, J. A.; THOMPSON, I. D.; TOLHURST, D. J. Spatial summation in the receptive fields of simple cells in the cat's striate cortex. **The Journal of Physiology**, v. 283, p. 53–77, 1978a.
77. MOVSHON, J. A.; THOMPSON, I. D.; TOLHURST, D. J. Receptive field organization of complex cells in the cat's striate cortex. **The Journal of Physiology**, v. 283, p. 79–99, 1978b.
78. MYSORE, S. P.; ASADOLLAHI, A.; KNUDSEN, E. I. Global inhibition and stimulus competition in the owl optic tectum. **The Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 5, p. 1727–1738, 2010.
79. MYSORE, S. P.; ASADOLLAHI, A.; KNUDSEN, E. I. Signaling of the Strongest Stimulus in the Owl Optic Tectum. **Journal of**



- Neuroscience**, v. 31, n. 14, p. 5186–5196, 2011.
80. MYSORE, S. P.; KNUDSEN, E. I. Flexible categorization of relative stimulus strength by the optic tectum. **The Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 21, p. 7745–7752, 2011a.
  81. MYSORE, S. P.; KNUDSEN, E. I. The role of a midbrain network in competitive stimulus selection. **Current Opinion in Neurobiology**, 2011b.
  82. NAITO, T.; SADAKANE, O.; OKAMOTO, M.; SATO, H. Orientation tuning of surround suppression in lateral geniculate nucleus and primary visual cortex of cat. **Neuroscience**, v. 149, n. 4, p. 962–975, 2007.
  83. NASSI, J. J.; CALLAWAY, E. M. Parallel processing strategies of the primate visual system. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 5, p. 360–372, 2009.
  84. NIEDER, A.; WAGNER, H. Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 7, p. 660–663, 1999.
  85. 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, 2000.
  86. NIEDER, A.; WAGNER, H. Hierarchical processing of horizontal disparity information in the visual forebrain of behaving owls. **The Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 12, p. 4514–4522, 2001.
  87. NISHIKAWA, K. C. Evolutionary convergence in nervous systems: insights from comparative phylogenetic studies. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 59, n. 5-6, p. 240–249, 2002.
  88. NOLT, M. J.; KUMBHANI, R. D.; PALMER, L. A. Contrast-dependent spatial summation in the lateral geniculate nucleus and retina of the cat. **Journal of Neurophysiology**, v. 92, n. 3, p. 1708–1717, 2004.
  89. NOTHDURFT, H. C.; GALLANT, J. L.; VAN ESSEN, D. C. Response modulation by texture surround in primate area V1: correlates of “popout” under anesthesia. **Visual Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 15–34, 1999.
  90. OHKI, K.; CHUNG, S.; CH'NG, Y. H.; KARA, P.; REID, R. C. Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. **Nature**, v. 433, n. 7026, p. 597–603, 2005.

91. OKAMOTO, M.; NAITO, T.; SADAKANE, O.; OSAKI, H.; SATO, H. Surround suppression sharpens orientation tuning in the cat primary visual cortex. **The European Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 5, p. 1035–1046, 2009.
92. OLSHAUSEN, B. A.; FIELD, D. J. How close are we to understanding v1? **Neural Comput**, v. 17, n. 8, p. 1665–1699, 2005.
93. OZEKI, H.; SADAKANE, O.; AKASAKI, T.; et al. Relationship between excitation and inhibition underlying size tuning and contextual response modulation in the cat primary visual cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 6, p. 1428–1438, 2004.
94. PALMER, S. E. **Vision Science: Photons to Phenomenology**. 1st ed. The MIT Press, 1999.
95. PETROV, Y.; MCKEE, S. P. The effect of spatial configuration on surround suppression of contrast sensitivity. **Journal of Vision**, v. 6, n. 3, p. 224–238, 2006.
96. PETTIGREW, J. Binocular Visual Processing in the Owl's Telencephalon. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, v. 204, n. 1157, p. 435–454, 1979.
97. PETTIGREW, J. Bi-sensory, striped representations: comparative insights from owl and platypus. **Journal of Physiology-Paris**, 2004.
98. PETTIGREW, J. D.; KONISHI, M. Effect of monocular deprivation on binocular neurones in the owl's visual Wulst. **Nature**, v. 264, n. 5588, p. 753–754, 1976a.
99. PETTIGREW, J. D.; 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, 1976b.
100. PINTO, L.; BARON, J. Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. **The European Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 7, p. 1251–1268, 2009.
101. RAIGUEL, S. E.; XIAO, D. K.; MARCAR, V. L.; ORBAN, G. A. Response latency of macaque area MT/V5 neurons and its relationship to stimulus parameters. **Journal of Neurophysiology**, v. 82, n. 4, p. 1944–1956, 1999.
102. RAMACHANDRAN, V. S.; GREGORY, R. L. Perceptual filling in of artificially induced scotomas in human vision. **Nature**, v. 350, n. 6320,

- p. 699–702, 1991.
103. RINGACH, D. L. Mapping receptive fields in primary visual cortex. **The Journal of Physiology**, v. 558, n. Pt 3, p. 717–728, 2004.
  104. RODIECK, R. W. Quantitative analysis of cat retinal ganglion cell response to visual stimuli. **Vision Research**, v. 5, n. 11, p. 583–601, 1965.
  105. RUST, N. C.; MOVSHON, J. A. In praise of artifice. **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 12, p. 1647–1650, 2005.
  106. SCENIAK, M. P.; RINGACH, D. L.; HAWKEN, M. J.; SHAPLEY, R. Contrast's effect on spatial summation by macaque V1 neurons. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 8, p. 733–739, 1999.
  107. SCENIAK, M. P.; HAWKEN, M. J.; SHAPLEY, R. Visual spatial characterization of macaque V1 neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 85, n. 5, p. 1873–1887, 2001.
  108. SCENIAK, M. P.; CHATTERJEE, S.; CALLAWAY, E. M. Visual spatial summation in macaque geniculocortical afferents. **Journal of Neurophysiology**, v. 96, n. 6, p. 3474–3484, 2006.
  109. SENGPIEL, F.; SEN, A.; BLAKEMORE, C. Characteristics of surround inhibition in cat area 17. **Experimental Brain Research**, v. 116, n. 2, p. 216–228, 1997.
  110. SÉRIÈS, P.; LORENCEAU, J.; FRÉGNAC, Y. The “silent” surround of V1 receptive fields: theory and experiments. **Journal of Physiology-Paris**, v. 97, n. 4-6, p. 453–474, 2003.
  111. SERRANO-PEDRAZA, I.; HOGG, E. L.; READ, J. C. A. Spatial non-homogeneity of the antagonistic surround in motion perception. **Journal of Vision**, v.11, n. 2, p. 1-9, 2011.
  112. SHERRINGTON, S. C. S. **The Integrative Action of the Nervous System**. Yale University Press, 1906.
  113. SHIMIZU, T.; COX, K.; KARTEN, H. J. Intratelencephalic projections of the visual wulst in pigeons (*Columba livia*). **The Journal of Comparative Neurology**, v. 359, n. 4, p. 551–572, 1995.
  114. SHIMIZU, T.; BOWERS, A. N. Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. **Behavioural Brain Research**, v. 98, n. 2, p. 183–191, 1999.
  115. SHOU, T.; WANG, W.; YU, H. Orientation biased extended surround of the receptive field of cat retinal ganglion cells. **Neuroscience**, v. 98, n. 2,

- p. 207–212, 2000.
116. SILLITO, A. M.; GRIEVE, K. L.; JONES, H. E.; CUDEIRO, J.; DAVIS, J. Visual cortical mechanisms detecting focal orientation discontinuities. **Nature**, v. 378, n. 6556, p. 492–496, 1995.
117. SKOTTUN, B. C.; DE VALOIS, R. L.; GROSOF, D. H.; et al. Classifying simple and complex cells on the basis of response modulation. **Vision Research**, v. 31, n. 7-8, p. 1079–1086, 1991.
118. SMITH, M. A. Surround suppression in the early visual system. **The Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 14, p. 3624–3625, 2006.
119. SOLOMON, S. G.; LEE, B. B.; SUN, H. Suppressing surrounds and contrast gain in magnocellular-pathway retinal ganglion cells of macaque. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 34, p. 8715–8726, 2006.
120. SOMERS, D. C.; TODOROV, E. V.; SIAPAS, A. G.; et al. A local circuit approach to understanding integration of long-range inputs in primary visual cortex. **Cerebral Cortex**, v. 8, n. 3, p. 204–217, 1998.
121. SONG, X.-M.; LI, C.-Y. Contrast-dependent and contrast-independent spatial summation of primary visual cortical neurons of the cat. **Cerebral Cortex**, v. 18, n. 2, p. 331–336, 2008.
122. SPILLMANN, L.; WERNER, J. S. Long-range interactions in visual perception. **Trends in Neurosciences**, v. 19, n. 10, 1996.
123. STEINBACH, M. J.; ANGUS, R. G.; MONEY, K. E. Torsional eye movements of the owl. **Vision Research**, v. 14, n. 8, p. 745–746, 1974.
124. SUN, H.-J.; ZHAO, J.; SOUTHWALL, T. L.; XU, B. Contextual influences on the directional responses of tectal cells in pigeons. **Visual Neuroscience**, v. 19, n. 2, p. 133–144, 2002.
125. TAILBY, C.; SOLOMON, S. G.; PEIRCE, J. W.; METHA, A. B. Two expressions of “surround suppression” in V1 that arise independent of cortical mechanisms of suppression. **Visual Neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 99–109, 2007.
126. VAN DEN BERGH, G.; ZHANG, B.; ARCKENS, L.; CHINO, Y. M. Receptive-field properties of V1 and V2 neurons in mice and macaque monkeys. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 518, n. 11, p. 2051–2070, 2010.
127. VAN HOOSER, S. D. Similarity and diversity in visual cortex: is there a

- unifying theory of cortical computation? **The Neuroscientist**, v. 13, n. 6, p. 639–656, 2007.
128. VARELA, F.; LACHAUX, J. P.; RODRIGUEZ, E.; MARTINERIE, J. The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 4, p. 229–239, 2001.
129. VIEIRA, P. G. **PROPRIEDADES DAS RESPOSTAS NEURONAIS RELACIONADAS AO PROCESSAMENTO DO CONTRASTE NO WULST VISUAL DA CORUJA-BURAQUEIRA, *Athene cunicularia***. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
130. VINJE, W. E.; GALLANT, J. L. Sparse coding and decorrelation in primary visual cortex during natural vision. **Science**, v. 287, n. 5456, p. 1273–1276, 2000.
131. VINJE, W. E.; GALLANT, J. L. Natural stimulation of the nonclassical receptive field increases information transmission efficiency in V1. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 7, p. 2904–2915, 2002.
132. WAGNER, H.; FROST, B. Disparity-sensitive cells in the owl have a characteristic disparity. **Nature**, v. 364, n. 6440, p. 796–798, 1993.
133. WALKER, G. A.; OHZAWA, I.; FREEMAN, R. D. Suppression outside the classical cortical receptive field. **Visual Neuroscience**, v. 17, n. 3, p. 369–379, 2000.
134. WEBB, B. S.; TINSLEY, C. J.; VINCENT, C. J.; DERRINGTON, A. M. Spatial distribution of suppressive signals outside the classical receptive field in lateral geniculate nucleus. **Journal of Neurophysiology**, v. 94, n. 3, p. 1789–1797, 2005.
135. WANG, C.; BARDY, C.; HUANG, J. Y.; FITZGIBBON, T.; DREHER, B. Contrast dependence of center and surround integration in primary visual cortex of the cat. **Journal of Vision**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2009.
136. WENG, C.; YEH, C.-I.; STOELZEL, C. R.; ALONSO, J.-M. Receptive field size and response latency are correlated within the cat visual thalamus. **Journal of Neurophysiology**, v. 93, n. 6, p. 3537–3547, 2005.
137. WYLIE, D. R. W.; GUTIERREZ-IBANEZ, C.; PAKAN, J. M. P.; IWANIUK, A. N. The optic tectum of birds: Mapping our way to understanding visual processing. **Canadian Journal of Experimental Psychology**, v. 63, n. 4, p. 328–338, 2009.
138. XING, D.; SHAPLEY, R. M.; HAWKEN, M. J.; RINGACH, D. L. Effect of

stimulus size on the dynamics of orientation selectivity in Macaque V1.

**Journal of Neurophysiology**, v. 94, n. 1, p. 799–812, 2005.

139. ZIPSER, K.; LAMME, V. A.; SCHILLER, P. H. Contextual modulation in primary visual cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 22, p. 7376–7389, 1996.