

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

CLAUDIANA SOUZA DE AMORIM

**INVARIÂNCIA AO CONTRASTE NO WULST VISUAL
DA CORUJA-BURAQUEIRA, *Athene cunicularia***

BELO HORIZONTE

2011

CLAUDIANA SOUZA DE AMORIM

INVARIÂNCIA AO CONTRASTE NO WULST VISUAL

DA CORUJA-BURAQUEIRA, *Athene cunicularia*

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

Área de concentração: Fisiologia

Orientador: Jerome Baron

BELO HORIZONTE

2011

Esta dissertação foi realizada no Laboratório de Neurodinâmica do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação do Prof. Dr. Jerome Baron, e contou com o financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS

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

Agradeço primeiramente a Deus. Seriam necessárias muitas linhas para descrever a minha gratidão a esse ser superior em quem acredito.

Também aos meus pais, que por meio de um amor incondicional não mediram esforços para fornecer todo o apoio necessário.

Agradeço também muitíssimo ao meu orientador, pela confiança e especialmente pela paciência. Tenho aprendido muito nesses últimos anos com você.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Neurodinâmica, por tudo! Momentos indescritíveis!

Aos amigos não pertencentes a esse mundo acadêmico, que souberam entender os momentos de ausência e compartilharam comigo muitas alegrias.

Às corujas, que foram importantíssimas na construção desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do ICB, professores, colegas e as secretárias Maria Célia S Costa, Cíntia Menezes, Nilda Lucas Laurindo.

E por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) o apoio financeiro.

Obrigada a todos!

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

Isaac Newton

RESUMO

A seletividade à orientação é uma propriedade chave dos neurônios no córtex visual primário (V1). Apesar dos 50 anos de consideráveis esforços em pesquisas, os mecanismos subjacentes a esta propriedade ainda são temas de discussões. O fato de a seletividade à orientação ser mantida apesar de amplas variações no contraste do estímulo, fenômeno denominado como invariância ao contraste, é considerado uma parte essencial nas evidências experimentais que limitam os possíveis modelos de seletividade. No presente estudo, nós investigamos se a invariância ao contraste é também presente em um modelo que é evolutivamente distante, embora funcionalmente comparável, de V1, chamado de wulst visual da coruja. Um total de 76 células foram isoladas em 5 corujas-buraqueiras alertas (*Athene cunicularia*), usando técnicas padrões de registros extracelulares. Os estímulos utilizados eram grades senoidais variando em contraste (10%, 30% e 90%) e direção do movimento ($n=16$, $22,5^\circ$ passos). As curvas de seletividade à orientação/direção foram caracterizadas com ajustes por meio da soma de duas funções von Mises à média das respostas usando métodos iterativos padrões de mínimos quadrados. Nós encontramos pequenas, porém significativas, alterações na média das larguras de banda (LB), ao aumentar o contraste. Este efeito, entretanto, não é compatível com o conceito do “efeito iceberg” (alargamento da largura de banda devido a um aumento no potencial de membrana) uma vez que não foram encontradas correlações positivas entre o ganho da LB e o ganho da resposta. Não há mudanças significativas na orientação preferida e uma mudança muito modesta foi encontrada na reescala das curvas. Também encontramos que a seletividade à direção não é invariante ao contraste. Células não-direcionais em altos contrastes significativamente aumentam suas taxas de resposta para uma direção específica do movimento quando estimulada em baixos contrastes. Tomados em conjunto, nossos resultados indicam que o contraste tem um pequeno impacto na precisão das curvas de seletividade a orientação. Os desafios futuros consistem em entender as implicações funcionais de tais achados.

Palavras chave: Coruja-buraqueira, telencéfalo visual de aves, invariância ao contraste, seletividade a orientação, evolução do cérebro.

ABSTRACT

Selectivity for stimulus orientation is a key emergent property of neurons in the mammalian primary visual cortex (V1). Despite 50 years of considerable research efforts, the mechanisms underlying this property are still a matter of ongoing debates. The fact that orientation-tuning precision is maintained despite wide variations in stimulus contrast, a phenomenon known as contrast invariance, has been considered as an essential piece of experimental evidence to constrain possible models of orientation selectivity. In the present study, we investigate whether contrast invariance is also present in a model system that is evolutionary distant, albeit functionally comparable, from V1, namely the owl visual wulst. A total of 76 cells were isolated in five awake burrowing owls (*Athene cunicularia*), using standard extracellular recording techniques. Test stimuli were optimal sine-wave gratings varying in both contrast (10%, 30% and 90%) and direction of drift ($n=16$, $22,5^\circ$ steps). Orientation/direction tuning was characterized by fitting the sum of two von Mises functions to mean responses using standard iterative least-square methods. We found that average tuning bandwidths slightly, but significantly, increased with contrast. This effect was however not compatible with the 'iceberg-effect' concept (broadening of tuning width due to a membrane potential increase) since no positive correlation between bandwidth and response gains were found. There was no significant shift in preferred orientation and a very modest re-scaling of tuning curves. We also found that directional tuning was not contrast invariant. Cells weakly directional at high contrast significantly increased their response rate for specific direction of movement when stimulated with low-contrast gratings. Altogether, our results indicate that contrast has a small impact on the orientation-tuning precision of wulst neurons. The challenge for future research will be to understand the functional implications of these findings.

Keywords: Burrowing owl, avian visual telencephalon, contrast invariance, orientation selectivity, brain evolution

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA – análise de variância anova

CR – campo receptor

CRT – tubo de raio catódico

HA – hiperpalio apical

HD – hiperpalio densocelular

ID – índice de direcionalidade

IHA – núcleo intersticial do HA

LB – largura de banda

NGL – núcleo geniculado lateral

V1 – córtex visual primário

W – wulst

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Esquema ilustrativo do modelo clássico de Hubel e Wiesel	3
Figura 2 – Esquema ilustrativo da invariância ao contraste	8
Figura 3 – Vista lateral e dorsal de peça anatômica da coruja-buraqueira e corte coronal do wulst	10
Figura 4 – Curva de calibração da luminância	19
Figura 5 – Curva de ajuste com descrição dos parâmetros escolhidos para avaliação da invariância ao contraste	24
Figura 6 – Respostas neuronais de uma célula simples e outra complexa a diferentes contrastes e orientações	27
Figura 7 – Distribuição dos valores de R^2 em diferentes contrastes	30
Figura 8 – Curvas de ajuste da resposta neuronal de duas células representativas da amostra	31
Figura 9 – Relação entre a diferença na orientação preferida e a média das LB	32
Figura 10 – Correlações entre os ganhos na orientação preferida e na LB	34

Figura 11 – Efeitos do contraste na seletividade à orientação	36
Figura 12 – Curvas populacionais de seletividade à orientação em diferentes contrastes	38
Figura 13 – Distribuição dos índices de direcionalidade nos três níveis de contraste.	39
Figura 14 – Relação entre índices de direcionalidade e contraste	39
Figura 15 – Comparação entre os valores de LB e ID em outros estudos	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados populacionais dos parâmetros escolhidos para avaliar a invariância ao contraste	29
Tabela 2 – Comparação dos parâmetros em diferentes contrastes	35

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Evidências experimentais que corroboram com modelo clássico	3
1.2. Evidências de incongruências no modelo clássico	4
1.3. A invariância ao contraste	6
1.4. A coruja como modelo experimental	9
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo geral	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1. Obtenção e cuidado com os animais	15
3.2. Treinamento dos animais	15
3.3. Procedimentos cirúrgicos	15
3.4. Registros eletrofisiológicos extracelulares	17
3.4.1. Dispositivo de multieletrodos	17
3.4.2. Registros dos sinais neuronais	18
3.5. Estimulação visual	18
3.5.1. Mapeamento dos campos receptores	20
3.5.2. Protocolo experimental	20
3.6. Análises de dados	21
3.6.1. Separação dos potenciais de ação (<i>Spike sorting</i>)	21
3.6.2. Classificação em simples e complexas	22
3.6.3. Critérios de exclusão	22
3.6.4. Análise da invariância ao contraste	23
3.6.5. Análise da seletividade para direção do movimento	25
3.6.6. Estatística geral	25
4. RESULTADOS	25
4.1. Observações gerais	27
4.2. Modulação pela orientação/direção e contraste	27

4.3. Invariância ao contraste	29
4.4. Dados populacionais	37
4.5. Seletividade à direção em diferentes níveis de contrastes	38
4.6. Avaliação comparativa em estudos com coruja-buraqueira	40
5. DISCUSSÃO	41
5.1. Resumo dos resultados encontrados	42
5.2. Considerações metodológicas	43
5.3. Invariância ao contraste	45
5.4. Tamanho do estímulo e invariância da seletividade à orientação	46
5.5. Correlatos perceptuais	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

A visão é uma modalidade sensorial que permite animais explorar seus nichos em busca de alimentos, fugir de predadores e cuidar da prole. Para isso, diversos atributos como direção do movimento, contraste, orientação de contornos, e cor são codificados ao longo de vias visuais, formando assim, progressivamente, representações mais completas. Em mamíferos, este processo é desempenhado principalmente pela via talamofugal. Essa via parte da retina, passa pelo núcleo geniculado lateral (NGL) e chega ao córtex visual primário (V1) do qual projeções para diversas áreas corticais visuais são estabelecidas (Shimizu e Bowers, 1999; Livingstone e Hubel, 1988, Nassi e Callaway, 2009). Entretanto, V1 não é apenas uma área relé uma vez que ele impõe importantes transformações sobre os sinais neuronais provenientes do NGL. De fato, seus neurônios apresentam propriedades de respostas para atributos visuais que não são encontradas ao nível da retina ou do NGL. Uma dessas propriedades é a seletividade para orientação de contornos que foi descoberta em gatos e primatas por Hubel e Wiesel (1962, 1968). Desde então, essa propriedade distintiva das células corticais tem gerado estudos e intensos debates no decurso da história da neurofisiologia da visão.

Segundo o modelo proposto por estes autores, a seletividade para orientação resulta da integração específica dos aferentes do NGL pelas células simples de V1. Os campos receptivos (CR) das células simples são caracterizados por alongadas sub-regiões excitatórias (ON) e inibitórias (OFF), alinhadas lado a lado, paralelas ao eixo da orientação preferida da célula. O modelo supõe que essas sub-regiões ON emergem da convergência dos sinais de células do NGL que possuem CRs centros-ON parcialmente sobrepostos ao longo de um eixo espacial formando assim regiões alongadas ON ao nível cortical. A mesma lógica aplica-se às regiões OFF dos CRs das células simples (Figura 1, Hubel e Wiesel, 1962).

As células simples, por sua vez, seriam o primeiro estágio do processamento visual em V1, enviando, posteriormente, projeções excitatórias para células complexas. Estas são também seletivas à orientação, no entanto, não possuem as sub-regiões excitatórias e inibitórias bem definidas e organizadas em seus CRs. Assim, o modelo assume uma estrutura de projeção

hierárquica convergente, de forma que a maioria das células do córtex visual primário é seletiva à orientação.

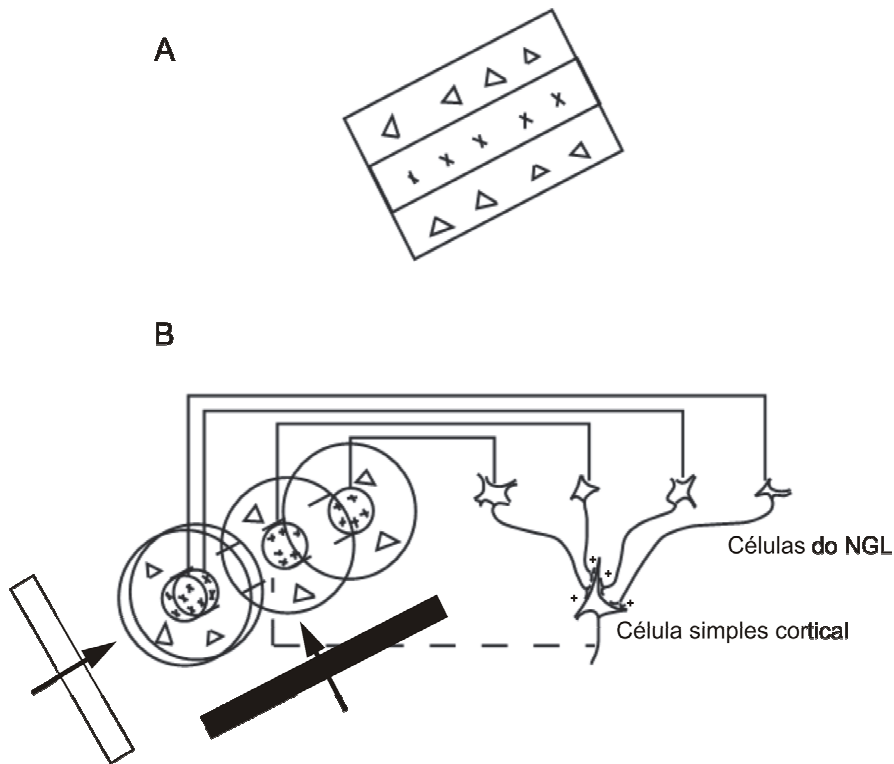


Figura 1. Ilustração do modelo de Hubel e Wiesel. A. Campo receptivo da célula simples. Sub-região excitatória é representada por x e sub-regiões inibitórias são representadas pelos triângulos. B. As células simples recebem aferências excitatórias das células talâmicas que possuem campos receptivos concêntricos alinhados paralelamente à orientação preferida (barra preta). Um estímulo na orientação preferida ativa várias células talâmicas simultaneamente, enquanto um estímulo na orientação anti-preferida (barra branca), ativa apenas uma célula de cada vez. Adaptado de Hubel e Wiesel (1962).

1.1 - Evidências experimentais que corroboram com modelo clássico

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

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

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

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

Embora proposto há muitos anos, o modelo elaborado por Hubel e Wiesel é simples e elegante, mas ainda continua fomentando discussões entorno da explicação para a emergência da seletividade a orientação (para revisão Ferster e Miller, 2000; Priebe e Ferster, 2008).

1.2 - Evidências de incongruências no modelo clássico

Concomitantemente com o modelo clássico, surge a hipótese da atuação da inibição lateral entre neurônios corticais no processo de emergência da seletividade. Essa inibição lateral, segundo os diversos modelos, poderia ser causada por neurônios seletivos a orientações diferentes da célula que está recebendo o aferente excitatório talâmico, ou poderia ser por aqueles seletivos às mesmas orientações ou insensíveis à orientação (Worgotten e Koch, 1991; Ben-Yishai *et al.*, 1995; Douglas *et al.*, 1995; Somers *et al.*, 1995; Sompolinsky e Shapley, 1997; Troyer *et al.*, 1998, 2002; Lauritzen e Miller, 2003).

Apesar dos diversos trabalhos demonstrarem a existência da inibição lateral e um possível papel da mesma nos mecanismos de seletividade das células corticais, o assunto ainda se encontra aberto para debate e novas

conclusões. Isto porque, estudos em que ocorre a inativação da inibição por diversos métodos (aplicação intravenosa ou tópica de bicuculine, aplicação de picrotoxina, resfriamento e estimulação elétrica), têm apresentado resultados controversos. Pettigrew e Daniel (1973), Rose e Blackmore (1974), Sillito (1975), descreveram alterações na seletividade dos neurônios corticais, entretanto, Sato *et al.* (1996), Nelson *et al.* (1994), Ferster *et al.* (1996), Chung e Ferster (1998), demonstraram que a atividade remanescente, de origem excitatória e talâmica, é suficiente para produzir uma seletividade similar ao do córtex intacto.

Por outro lado, endossando os modelos de inibição lateral, há algumas características das células simples que inicialmente não são explicadas pelo modelo clássico, como:

- a diferença encontrada entre as medidas reais da largura da curva de seletividade e os valores da largura da curva preditos pelo organização espacial dos CRs. A curva real é mais estreita do que quando comparada com as predições lineares do modelo clássico (Jones e Palmer, 1987; Gardner *et al.*, 1999);
- a supressão decorrente da justaposição de estímulos, isto é, um estímulo apresentado na orientação não-preferida, suprime a resposta de um estímulo na orientação preferida (Campbell e Kulikowski, 1966; Bishop *et al.*, 1973);
- a variação da dinâmica temporal da curva de seletividade à orientação, isto é, a curva se torna mais estreita ao longo do curso da resposta neuronal (Ringach *et al.*, 1997, 2003);
- a invariância ao contraste, que é um fenômeno em que os neurônios do córtex visual primário mantêm suas seletividades para determinado atributo apesar de amplas variações de contraste (Sclar e Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987).

Entretanto, já tem sido demonstrado também que diversas incongruências do modelo clássico podem ser explicadas simplesmente com algumas propriedades não-lineares das células corticais (como o limiar de disparo, por exemplo). Porém, a inibição não pode ser completamente descartada, uma vez que ela pode ser responsável por estabilizar a circuitaria cortical e também por

controlar o tempo das respostas dentro da rede neuronal (Priebe e Ferster, 2008).

1.3 - A invariância ao contraste

Conforme exposto, o modelo clássico não consegue explicar algumas propriedades das células corticais como a invariância ao contraste. Para entender a limitação desse modelo é preciso ressaltar as duas operações essenciais nas quais ele se baseia: a primeira é a somação linear dos *inputs* provenientes do NGL; a segunda é a filtragem dessa somação por um mecanismo de ajuste de limiar de disparo que garante a seletividade orientacional da célula cortical (ver Fester e Miller, 2000; Carandini, 2007). Uma vez que neurônios do NGL não são, ou mais exatamente, são fracamente seletivos à orientação de contornos (Hubel e Wiesel, 1962; Xu *et al.*, 2002), o modelo assume um limiar de disparo relativamente elevado de maneira a diminuir a contribuição da atividade talâmica evocada por orientações distantes da preferida. O problema é que se o limiar for muito alto, estímulos de baixos contrastes não evocariam respostas supra-limiare. Para que isso aconteça, a célula cortical tem que diminuir seu limiar de disparo resultando em perda da seletividade à orientação. Portanto, o modelo clássico prediz que a precisão da seletividade à orientação muda em função do contraste (Figura 2, A e B), o chamado “efeito iceberg”. Porém, registros eletrofisiológicos em V1 mostram que isso não é o caso: apesar das respostas neuronais aumentarem em amplitude à medida que o contraste de um estímulo aumenta, a seletividade à orientação não varia, ou seja, ela é invariante (Sclar e Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987; Fester e Miller, 2000; Carandini, 2007).

Diversos mecanismos tem sido propostos para explicar este fenômeno. Antes de detalhar alguns deles, convém ressaltar que registros intracelulares de células corticais revelam que mesmo em orientações diferentes da preferida, inclusive na anti-preferida, há pequenas despolarizações no potencial da membrana, no entanto, estas não são suficientes para que o limiar de disparo seja ultrapassado, e, portanto, não há disparo de potenciais de ação (ver Carandini e Ferster, 2000).

Muitos dos mecanismos propostos tem como peça-chave a inibição intra-cortical, como por exemplo, na inibição de orientação cruzada, onde

interneurônios seletivos para a orientação anti-preferida, produziriam uma supressão na despolarização da célula cortical para o estímulo na orientação que não a preferida. Outros autores propõem, no entanto, que tal inibição pode ser imposta por interneurônios seletivos às orientações específicas ou mesmo por aqueles insensíveis à orientação (Nowak *et al.* 2008; Priebe e Ferster, 2008). De qualquer forma, o resultado final desses modelos é a ausência ou inibição da despolarização na orientação anti-preferida, e, portanto, o limiar pode ser diminuído, permitindo que em baixos contrastes haja respostas evocadas a orientação preferida.

Porém, de forma controversa, alguns trabalhos obtiveram evidências que não corroboram com essa ausência ou inibição da despolarização na orientação anti-preferida (Monier *et al.*, 2003; Finn *et al.*, 2007). Portanto, outros mecanismos como o controle de ganho de contraste, a variabilidade do potencial de membrana e o limiar de disparo foram propostos para explicar o surgimento da invariância ao contraste (Anderson *et al.*, 2000; Finn *et al.*, 2007).

A idéia do ‘controle de ganho de contraste’ propõe um ganho na resposta em função da mudança no contraste. Esse mecanismo não é constante, e na verdade, o ganho decresce com o aumento do contraste, possibilitando que as respostas aos contrastes altos e baixos sejam mais similares umas as outras. Dessa forma, é possível ter um limiar “acessível” aos dois níveis de contraste (Figura 2, C e D).

Mas para obter curvas de seletividade similares às aquelas obtidas experimentalmente, um outro mecanismo aliado ao do controle do ganho foi proposto. Anderson *et al.* (2000) demonstrou que a variabilidade das respostas celulares a cada repetição do estímulo somada ao valor médio do potencial de membrana é capaz de elevar o potencial até que este alcance o limiar de disparo da célula. Essa variabilidade é contraste-dependente, ou seja, ela aumenta enquanto o contraste decresce (Figura 2, E e F; Finn *et al.*, 2007).

Assim, juntando esses mecanismos, as respostas aos estímulos de baixo contraste são capazes de ultrapassar o limiar da célula, sem que haja alteração no mesmo e se perca a seletividade à orientação (Finn *et al.*, 2007; Carandini, 2007; Priebe e Ferster, 2008).

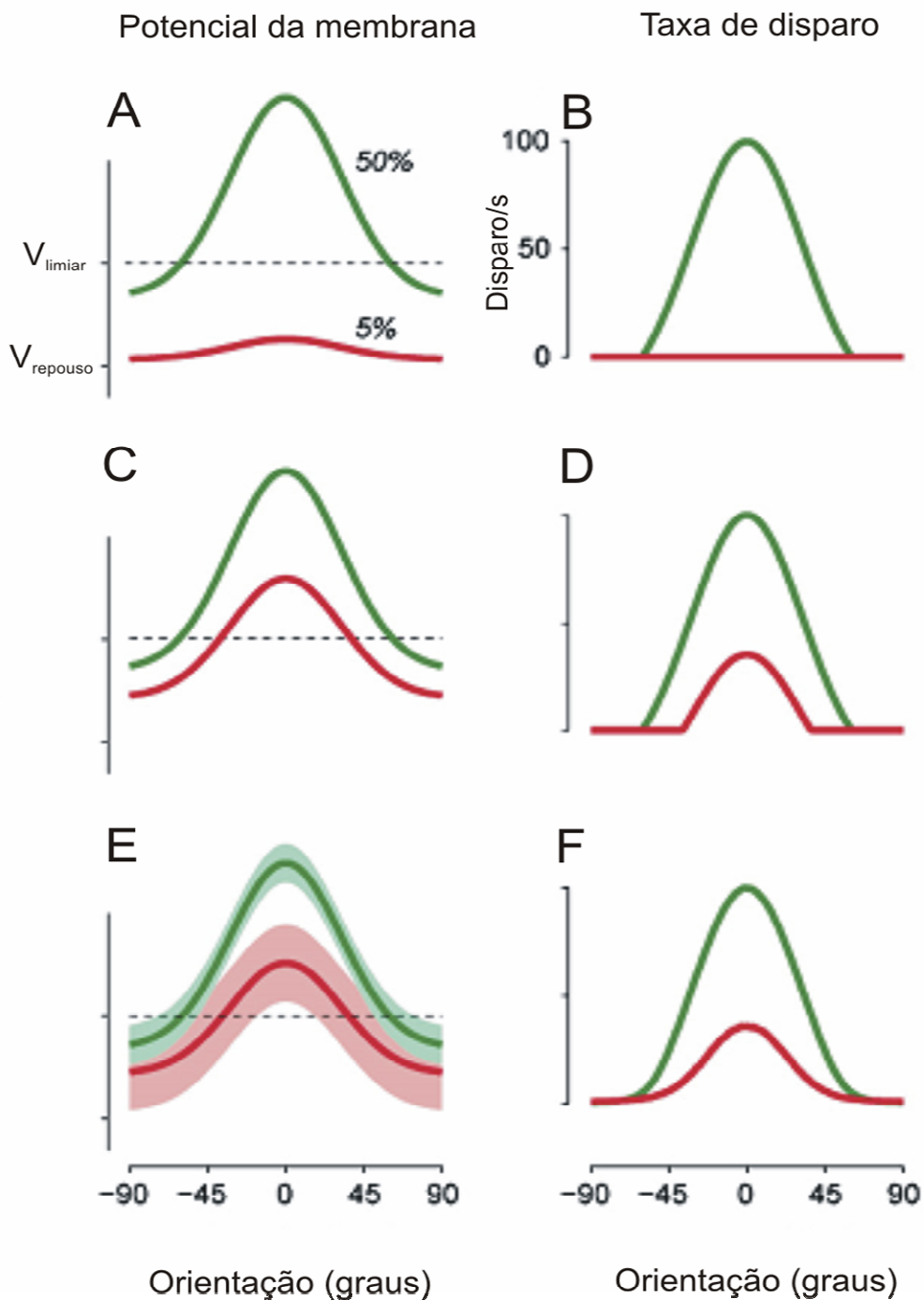


Figura 2. Invariância ao contraste. A e B. No modelo clássico o limiar (V_{limiar}) deve ser alto para garantir a seletividade à orientação, porém, estímulos em baixos contrastes (5%) não evocam respostas. C e D. Com o mecanismo de controle de ganho de contraste, a resposta se torna mais próxima dos resultados obtidos nos registros eletrofisiológicos. E e F. Somando a variabilidade (sombra em E) ao ganho, emerge a invariância ao contraste. $V_{repouso}$ é o potencial de repouso. Reproduzido de Carandini, 2007.

1.4 – Comparação filogenética da Invariância ao contraste

De um modo geral, a invariância ao contraste vem sendo apresentada como um fenômeno robusto e universal na fisiologia da camada IV do córtex visual primário de mamíferos e é um tema sempre recorrente nos estudos sobre seletividade à orientação. Entretanto, a maioria dos trabalhos e dos modelos matemáticos propostos para explicar tal fenômeno foi realizada em gatos (Sclar e Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 2000; Finn *et al.*, 2007). Alguns estudos foram realizados em macacos (Carandini *et al.*, 1997; Shapley *et al.*, 2002; Nowak e Barone, 2009), furões (Alitto & Usrey, 2004) e esquilos (Van Hoeser *et al.*, 2005), mas nem todas confirmaram a conservação filogenética do fenômeno de invariância ao contraste. Em particular, um estudo recente de Nowak e Barone (2009) no V1 do sagüi, *Callithrix jacchus*, apresentou resultados opostos, a saber um claro “efeito iceberg” na seletividade neuronal à orientação em função do contraste de grades sinusoidais estáticas.

Essas considerações alertam que a tendência natural em querer generalizar determinados mecanismos aparentemente coerentes com resultados obtidos num modelo experimental deve ser realizada com cautela, uma vez que diferenças filogenéticas existentes não podem ser desconsideradas. Por exemplo, não se pode afirmar seguramente que as células X e Y da retina e do tálamo de carnívoros sejam idênticas às células M e P de primatas, tanto de um ponto de vista funcional como na organização anatômica de suas projeções no córtex (Callaway, 2004).

1.5 – A coruja como modelo experimental

Em sintonia com o argumento apresentado acima, o presente estudo propõe revisitar o fenômeno da invariância ao contraste em um modelo experimental alternativo não cortical que é o wulst visual da coruja, mais especificamente, a coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*). A seguir, são introduzidos conceitos chaves que apoiam essa proposta de trabalho.

Assim como em mamíferos, as aves possuem duas vias paralelas para o processamento visual: a via talamofugal e a via tectofugal. Na maioria das

aves, a via principal é a tectofugal, diferentemente dos mamíferos (para revisão vide Shimizu e Bowers, 1999). Nessa via, as fibras partem da retina, projetam-se para o teto óptico (chamado colículo superior em mamíferos) e, daí, para o núcleo rotundus do tálamo, do qual neurônios de projeção integram-se à áreas telencefálicas, principalmente o *entopallium*. Dentro do grupo das aves, a coruja se torna um objeto interessante de estudo uma vez que a via principal de processamento visual, a talamofugal, é semelhante à de mamíferos. Nessa via, as fibras partem da retina, passam pelo núcleo geniculado lateral no tálamo e projetam-se para uma área telencefálica denominada wulst visual (Karten, 1973; Shimizu e Bowers, 1999). Essa singularidade evolutiva da coruja em relação a sua ordem filogenética apresenta-se, num primeiro nível de análise anatômica, como uma hipertrofia das áreas pertencentes à via retino-talamo fugal: enquanto estima-se que 90% das projeções retino-fugais se integram ao teto ótico numa ave 'padrão' como o pombo (Shimizu e Karten, 1993), estima-se que essa mesma proporção caracteriza a projeção retina-tálamo na coruja. Portanto, não é surpreendente que o wulst, área telencefálica que recebe preponderantemente projeções visuais do tálamo visual, mostra-se muito mais desenvolvido nas corujas, ocupando quase um quarto do volume do cérebro (Figura 3, Iwaniuk e Hurd, 2005; Iwaniuk e Wylie, 2006; Iwaniuk *et al.*, 2008).

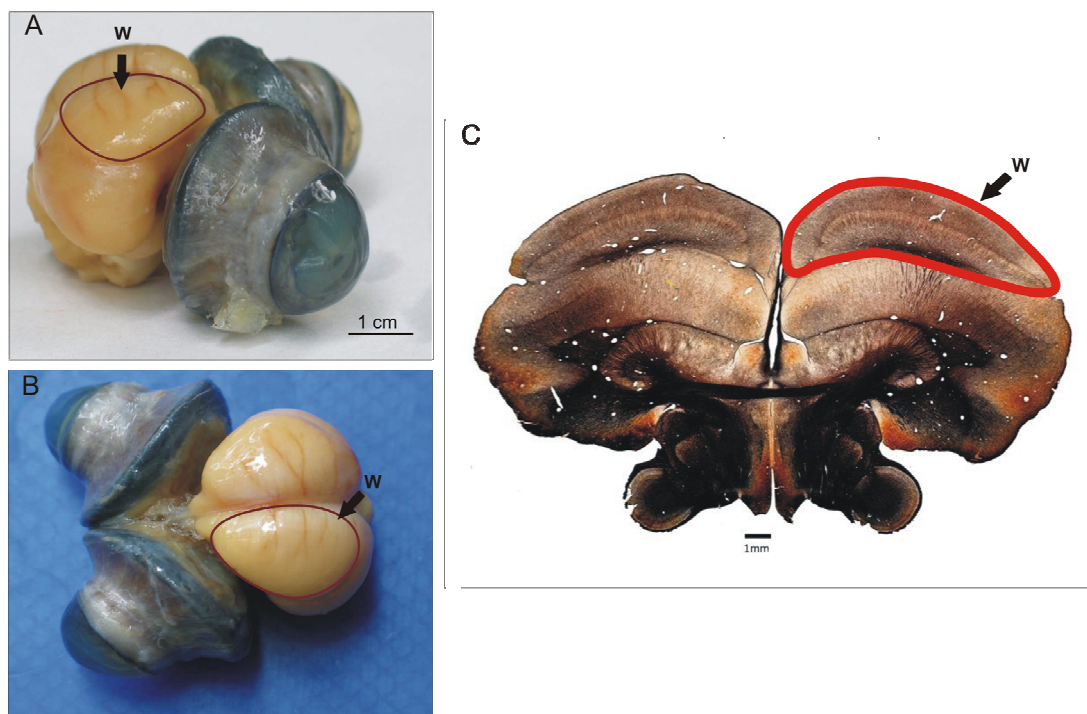


Figura 3. O wulst (W) visual da coruja buraqueira pode ser observado na peça anatômica em vista lateral (A) e em vista dorsal (B). E em C, corte coronal com coloração de Gallyas, onde é possível visualizar o wulst e suas camadas.

Do ponto de vista funcional, o wulst visual da coruja apresenta propriedades de resposta neuronal muito mais elaboradas de que as encontradas no wulst de outras aves e são muito similares as do córtex estriado. Assim como V1, possui neurônios com pequenos campos receptores organizados retinotopicamente e seletividade para disparidade binocular (Wagner e Frost, 1993, 1994; Nieder e Wagner, 2000, 2001a, b). Ressalto também, outras evidências fisiológicas da semelhança entre V1 e wulst como a seletividade à orientação do estímulo e velocidade do movimento (Pettigrew e Konishi 1976; Pettigrew, 1979; Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009; Pinto e Baron, 2010). De forma interessante, essas características não parecem ter sido herdadas de um ancestral comum: elas evoluíram de forma independente, provavelmente moldados por pressões seletivas semelhantes (Shimizu e Bowers, 1999; Medina e Reiner, 2000).

Em uma perspectiva mais ampla, isso faz da coruja um excelente modelo comparativo para o estudo dos mecanismos neuronais subjacentes à percepção visual. Em particular, o estudo do wulst pode ajudar a entender as regras gerais que governam a implementação de soluções neurais para o processamento visual. Dessa forma, nosso trabalho se propôs avaliar o problema da invariância ao contraste, a partir de um abordagem comparada, proposta que além de seu valor intrínseco, permitirá estabelecer um maior entendimento acerca dos processos evolutivos que direcionam a construção de circuitos neuronais envolvidos na percepção visual.

OBJETIVOS

2 - OBJETIVOS

O presente estudo teve por objetivo investigar a presença do fenômeno da invariância ao contraste no wulst visual da coruja por meio de registros extracelulares de neurônios individuais. Essa invariância será caracterizada em função da seletividade à orientação e direção do movimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Obtenção e cuidados com os animais

Os animais utilizados foram mantidos em um aviário localizado nas dependências do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG. Eles receberam todos os cuidados no decorrer da pesquisa como alimentação adequada (roedores), controle do peso, controle de ectoparasitas e minimização do estresse durante os procedimentos experimentais. Assim sendo, todos os cuidados e procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, UFMG (protocolo 005/04). A manutenção e uso das corujas foram autorizados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) por intermédio do Centro de Triagem Animal de Belo Horizonte (CETAS/BH), através da licença de nº 02015.004197/03.

3.2 – Treinamento dos animais

O registro extracelular da atividade elétrica de neurônios do sistema visual em corujas acordadas foi realizado através de uma técnica desenvolvida e utilizada com sucesso por nosso grupo (Baron *et al.*, 2007). Um ponto central dessa técnica é o treinamento dos animais para que tolerem a imobilização corporal e a fixação da cabeça por períodos de tempo suficientes para a realização dos registros. O monitoramento de movimentos oculares, essencial em estudos com mamíferos, não foi necessário em nosso estudo, já que esses estão apenas minimamente presentes na coruja, alcançando uma amplitude máxima de 0.5° na coruja buraqueira (Steinbach *et al.*, 1974; Pettigrew e Konishi, 1976; Knudsen, 1982).

Assim, as corujas são inicialmente socializadas através de manuseio diário por um período médio de duas semanas. São utilizadas técnicas padrão de falcoaria, de acordo com as quais as corujas são carregadas e mantidas no laboratório, de modo a se acostumarem com a presença de pessoas e com os sons habituais do local. Além disso, as corujas foram frequentemente deixadas na cabine de registro, onde foram, muitas vezes, alimentadas, o que funcionou como um reforço positivo. Após esse período inicial, os animais foram

submetidos à cirurgia de implante do cilindro de registro (ver seção 3.3), após a qual se seguiu um período de recuperação de pelo menos quatro dias. Somente então deu-se início ao treinamento para aceitação da imobilização corporal e fixação da cabeça. Para tal, os animais foram colocados sobre um poleiro e presos a ele por alças de Velcro®, sendo parcialmente envolvidos por uma jaqueta de couro que impede o movimento das asas. Nessas condições, os animais foram frequentemente reforçados com pequenos pedaços de carne, sendo esse procedimento repetido até que o animal parasse de dar sinais de resistência, como vocalizações e tentativas de desvencilhamento, o que normalmente demandava cerca de uma semana. Só então se iniciaram os experimentos eletrofisiológicos, que foram bem aceitos pelas corujas. Os procedimentos de instalação dos dispositivos de restrição e fixação de cabeça eram executados rapidamente, com pouco ou nenhum estresse para os animais, e, no decorrer do registro, esses permaneceram quietos e sem sinais de aversão. Assim que sinais de cansaço ou inquietude eram notados nos animais, os registros eram interrompidos. Isso tipicamente ocorria 3 a 4 horas após o início da sessão de registro, durante o qual os animais eram constante e cuidadosamente monitorados pelo experimentador.

3.3 – Procedimentos cirúrgicos

Uma câmara de registro de baixo peso foi implantada cirurgicamente sobre a área cranial de acesso à região de interesse (wulst). Essa mesma câmara foi utilizada para fixar a cabeça das aves durante os registros. Cada câmara constitui-se de uma peça metálica de formato cilíndrico, com diâmetro interno de 10 mm, altura de 8 mm, espessura de 1,5 mm e massa de 1 g (~ 0.7% do peso do animal). A anestesia foi realizada com Zoletil® 50 (uma mistura de 1:1 de tiletamina e zolazepam, Virbac, Carros, França), administrado por via intramuscular em uma dose de 20 mg/kg. Após a perda dos reflexos de retirada da pata, o animal foi envolvido por uma jaqueta de couro, e sua cabeça fixada em um aparelho estereotáxico (Modelo 1430, David Kopf Instruments, Tujunga, Califórnia, EUA). O crânio foi exposto através de uma incisão na pele com 25 a 30 mm de comprimento, e a posição da craniotomia foi marcada sobre a superfície óssea de acordo com coordenadas estereotáxicas definidas em nosso laboratório. A câmara de registro foi

centrada nesse ponto de referência e fixada ao crânio com resina odontológica (Vitro Fil®, DFL, Rio de Janeiro, Brasil), de modo a permitir que os eletrodos entrassem perpendicularmente ao cérebro. Previamente à fixação, pequenos orifícios foram feitos no crânio para permitir uma melhor aderência da resina. Procedeu-se, então, a sutura da pele, seguida pela realização de uma craniotomia circular (diâmetro de aproximadamente 3mm), por dentro do cilindro implantado. As cirurgias tiveram duração média de 1 hora e foram realizadas sob condições assépticas. Após o tempo cirúrgico, foram administrados, intramuscularmente, um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil), um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen® 1%, Merial, São Paulo, Brasil) e sobre a dura-máter exposta um corticóide de uso tópico (Nepodex®, Latinofarma, São Paulo, Brasil).

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

3.4 – Registros eletrofisiológicos extracelulares

3.4.1 – Dispositivo multieletrodos

Os registros eletrofisiológicos extracelulares foram realizados por meio de um dispositivo de multieletrodos desenvolvido no Instituto Max-Planck e já utilizado com sucesso em corujas (Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009, Pinto e Baron, 2010). Os eletrodos (n = 1-3; Thomas Recording, Alemanha; impedância: 0,3 – 0,7 MΩ a 1 KHz; diâmetro do corpo: 80 µm; diâmetro da ponta: ~ 2 µm) foram montados dentro de microtubos guia equidistantes, acoplados a 3 micromanipuladores hidráulicos de precisão (Narishige, Japão). Esse dispositivo permite um posicionamento preciso e independente de pequenos grupos de eletródios, o que flexibiliza o isolamento da atividade unitária. O dispositivo é preso à câmara de registro através de um adaptador metálico parafusado a ela e é mantido estável por um braço metálico, de modo a minimizar os movimentos relativos entre os eletrodos e a cabeça do animal proporcionando, assim, uma boa estabilidade de registro.

3.4.2 – Registro dos sinais neuronais

Os sinais extracelulares captados pelos eletrodos foram amplificados ($\times 10.000$) e filtrados (filtro passa-faixa 0,3kHz – 7kHz; headset HST/16o25, Caixa pré-amplificadora de 32 canais, Plexon Inc., Texas, EUA). A digitalização do sinal foi realizada com uma frequência de amostragem de 32 kHz, por uma placa A/D de 16 bits de resolução, com recursos de trigger e timer (PCI-6259, National Instruments, Austin, Texas, EUA). Os dados foram adquiridos, processados e armazenados em um PC AMD Athlon de 2 GHz, sob o controle de um sistema de programas computacionais SPASS, implementado em LabView (National Instruments, Texas, EUA), pelo Dr. Sérgio Neuenschwander, do Instituto Max Planck para Pesquisa do Cérebro (Frankfurt, AL).

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

3.5 – Estimulação visual

Os estímulos visuais utilizados foram grades senoidais apresentadas em um monitor CRT analógico de 19 polegadas (Samsung SyncMaster 955DF), com uma resolução de 1024 \times 768 pixels e uma taxa de renovação de *frame* de 100 Hz. O monitor foi posicionado a 57 cm do olho da coruja. Ressalta-se que, a 57 cm, 1 cm de estímulo corresponde a aproximadamente 1° de ângulo visual e a parte utilizável da tela é de 27° \times 36° de ângulo visual. As medidas de luminância do monitor para a correção gama foram realizadas com colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Inglaterra). Foi utilizada uma escala RGB de 8-bits com correção gama para produzir um comportamento linear da luminância apresentada no monitor (Fig. 4). Para realizar essa correção, primeiro foi medido a luminância de vários tons da escala de cinza no monitor de apresentação de estímulos, utilizando o medidor de luminância ColorCal. Em seguida, as medidas foram plotadas e uma função de ajuste matemático foi

calculada ($y=x^{\text{gama}}$), estimando-se assim, o valor de gama (*Fit Toolbox* do Matlab, MathWorks, USA). Uma vez calculado o valor gama, gerou-se uma função inversa ($y=x^{1/\text{gama}}$) a partir da qual foi gerada uma nova tabela de cores. O efeito final foi uma relação linear entre cor e luminância, já que as funções inversas do monitor e da tabela de cores se anulam. Todos os estímulos possuíam uma luminância média de 56 cd/m^2 , que se igualava àquela do fundo, e foram apresentados na forma circular com 2 a 6 graus de diâmetro. Medidas fotométricas foram realizadas rotineiramente com o medidor de luminância ColorCal a fim de verificar a estabilidade da calibração do monitor. Por meio do pacote ActiveStim (www.activestim.com), os estímulos foram preparados como seqüências de imagens *bitmap*, por rotinas implementadas em Labview pelo Prof. Jerome Baron e apresentadas como filmes com grande precisão temporal na ordem de milissegundos.

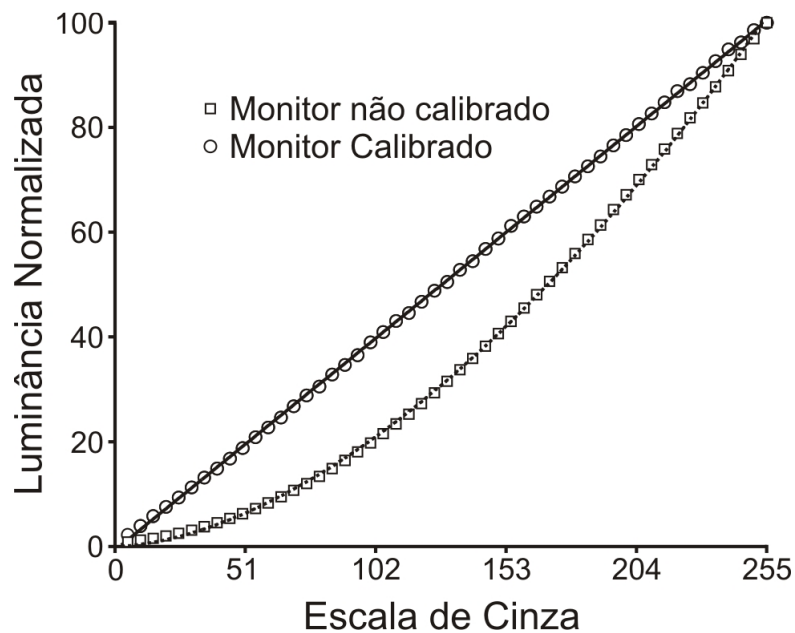


Figura 4. Calibração da luminância do monitor utilizado para apresentação dos estímulos visuais. Os quadrados indicam os valores de luminância antes da calibração e os círculos depois da calibração.

3.5.1 – Mapeamento dos campos receptores

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

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

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

3.5.2 – Protocolo experimental

Para avaliar a invariância ao contraste o estímulo utilizado era constituído de grades que se moviam em 16 direções diferentes (incremento de 22,5°) e variavam em três níveis de contraste (10, 30, 90%). O contraste foi definido pela equação de Michelson (1927):

$$C = 100\% \frac{Lum_{\max} - Lum_{\min}}{Lum_{\max} + Lum_{\min}} \quad (1)$$

onde Lum_{max} e Lum_{min} são os níveis máximo e mínimo de luminância da grade senoidal, respectivamente. Os demais atributos, como tamanho, FE e FT, estavam otimizados para a preferência da célula. O tempo de apresentação do estímulo foi de 2s e um intervalo de 2s entre estímulos foi escolhido para minimizar possíveis efeitos da história da estimulação antecedente sobre a estimulação atual. Além disso, 0,5s de atividade espontânea foi registrada antes da apresentação de cada estímulo, constituindo assim um *trial* de 4,5s. Os estímulos foram apresentados em 10 blocos onde as condições eram apresentadas em uma ordem pseudo-aleatória, totalizando, assim, 480 *trials* e um período total de estimulação de 36 minutos.

3.6 – Análises de dados

As análises de dados foram realizadas através de um conjunto integrado de programas computacionais implementados em LabView (National Instruments, EUA) e Matlab (MathWorks, EUA).

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

Os registros dos potenciais de ação dos neurônios isolados foram submetidos a um procedimento conhecido como *spike sorting* (para revisão ver Lewicki, 1998), usado para separar os potenciais de ação de células individuais com base nas diferenças das formas de onda adquiridas. Formas de onda provenientes de uma mesma célula tendem a ser semelhantes e por isso tendem a ocupar posições próximas em um espaço paramétrico, formando aglomerados bem definidos. Essas semelhanças são definidas quanto às características das formas de onda, como a amplitude do pico, vale e largura. Neste trabalho, foi utilizado o programa chamado SpikeOne, desenvolvido por Nan-Hui Chen, ex-integrante da equipe de trabalho de Sergio Neuenschwander no Instituto Max-Planck, já utilizado em vários estudos (Baron *et al.*, 2007; Pinto e Baron, 2009, Lima *et al.*, 2010; Pinto e Baron, 2010). Esse programa utiliza o algoritmo de *dynamic template matching*. Tal algoritmo gera modelos de ondas baseado em vários parâmetros, e associa cada potencial de ação a um modelo, que é dinamicamente computado por uma rede neural artificial. A separação dos potenciais de ação foi realizada de forma semi-automática.

Primeiramente, foi permitido ao programa encontrar automaticamente as unidades e em seguida, passou-se ao modo manual, na qual o experimentador pode agrupar ou não as classes de potências de ação encontradas pelo algoritmo. Para garantir a qualidade da separação, foram utilizados alguns indicadores disponibilizados no programa, dentre os quais podemos citar: um bom agrupamento de escores da análise de componente principal; a não violação de um período refratário absoluto estipulado em 2 ms, segundo verificado no histograma de intervalo inter-disparo; e a estabilidade da amplitude e largura do potencial de ação no decorrer do tempo. Somente os agrupamentos de potenciais de ação que passaram pelos critérios de boa qualidade de separação foram utilizados nas análises posteriores.

3.6. 2 – Classificação em células ‘simples’ ou ‘complexas’.

A resposta de cada unidade isolada foi convertida em histogramas de tempo peri-estímulo (PSTHs) com um bin de 20 ms. Após a subtração da atividade espontânea, foi aplicada em cada histograma a transformada de Fourier para a estimativa da resposta da componente DC (F0) e na frequência fundamental do estímulo (F1) ao longo de todo o período de apresentação do estímulo. Células com um índice de modulação (F1/F0) maior que 1, para a condição de estímulo ideal, foram classificadas como simples e sua taxa de resposta calculada pela amplitude de F1. As células com índice de modulação menor que 1 foram classificadas como complexas e tiveram a sua resposta calculada a partir da taxa de disparo média calculada durante os dois segundos de estimulação (De Valois *et al.*, 1982; Skottun *et al.*, 1991).

3.6.3 – Critérios de exclusão.

Dois critérios de exclusão foram adotados para garantir a confiabilidade das respostas dos neurônios do wulst aos estímulos apresentados.

Por meio do teste Wilcoxon signed-rank, foi avaliado se pelo menos uma das grades senoidais do protocolo de invariância ao contraste era capaz de induzir uma resposta evocada estatisticamente confiável. Para cada célula, o teste estatístico aplicou-se entre a taxa de disparo calculada meio segundo antes (atividade espontânea) e depois (atividade evocada) do tempo de aparição do estímulo a qual a célula responde melhor. As células, cuja

diferença na frequência de disparo entre essas duas épocas foi $P > 0,05$, foram excluídas da análise.

O teste two-way ANOVA ($P < 0,05$) foi utilizado para verificar se as respostas neuronais eram significativamente moduladas pelas duas variáveis independentes do protocolo de invariância ao contraste (contraste e orientação/direção), e se essas duas variáveis tinham um grau de interação, a saber se as diferenças observadas em função da orientação/direção foram idênticas para cada contraste testado. Foram excluídas as células que não modulavam para orientação/direção do estímulo.

3.6.4 – Análise da invariância ao contraste

Visando inferir se o fenômeno da invariância ao contraste ocorre no wulst visual foram escolhidos alguns parâmetros derivados da curva de seletividade à direção do movimento e à orientação obtida após procedimentos de ajuste de curvas. Assim sendo, os parâmetros são (vide também Figura 5): 1) a direção ou orientação preferida em graus (seta preta, projeção no eixo das abscissas); 2) a amplitude da resposta no pico mais elevado da curva (seta vermelha, projeção no eixo das ordenadas); 3) a amplitude da resposta no valor mínimo de curva (seta cinza, projeção no eixo das ordenadas) e 4) a largura de banda (LB) das curvas, que é a metade da largura na metade da altura da curva definida como a diferença entre o pico da curva e o valor mínimo da curva. Ao analisar os valores dos parâmetros 1, 3 e 4, esperou-se que, de acordo com a hipótese de invariância ao contraste, não haveria variações dos mesmos, havendo somente uma variação na amplitude da resposta ao mudar o contraste.

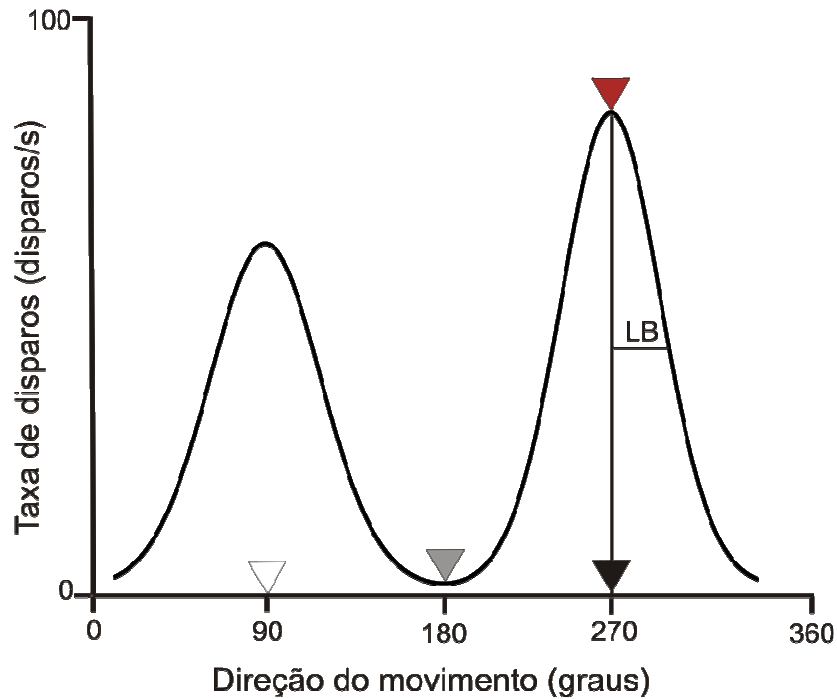


Figura 5. Curva de ajuste para uma célula hipotética. As setas branca, cinza, preta e vermelha indicam, respectivamente: direção anti-preferida, valor mínimo, direção preferida e valor máximo. LB= largura de banda

Portanto, para obter tais parâmetros as respostas neuronais às várias direções do movimento foram ajustadas com a soma de duas funções von Mises (Swindale *et al*, 2003; Baron *et al*, 2007):

$$M(\varphi) = m + A_1 \exp \{k_1 [\cos(\varphi - \varphi_1) - 1]\} + A_2 \exp \{k_2 [\cos(\varphi - \varphi_2) - 1]\} \quad (2)$$

onde m é a taxa da atividade espontânea, A_1 e A_2 são os valores máximos dos picos, φ_1 e φ_2 são os ângulos nos quais os picos ocorrem, e k_1 e k_2 são fatores de concentração, que se relacionam inversamente com a largura dos picos. Para aquelas células em que não havia pico na direção anti-preferida, o valor de A_2 era igual a 0. Os valores iniciais eram: $A_1 =$ valor máximo, $A_2 = 0.7 A_1$, $k_1 = k_2 = 2$, $\varphi_2 = \varphi_1 + 180^\circ$ e $m \geq 0$.

3.6.5 – Análise da seletividade para direção do movimento

A seletividade para a direção movimento foi avaliada por meio do índice de direcionalidade (ID), descrito abaixo:

$$ID = 1 - \frac{R_{anti} - R_{spont}}{R_{pref} - R_{spont}} \quad (3)$$

onde R_{pref} é a taxa de resposta à direção preferida do estímulo, R_{anti} é a taxa de resposta à direção anti-preferida, ou seja, 180° da preferida e finalmente R_{spont} é a taxa de atividade espontânea da célula. O índice de direcionalidade foi calculado com as taxas de respostas obtidas no contraste máximo. As células com $ID \geq 0,5$ foram consideradas como direcionais e aquelas com $ID \leq 0,5$ como não-direcionais.

3.6.6 – Estatística geral

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

RESULTADOS

RESULTADOS

4.1 – Observações Gerais:

Por meio de 67 penetrações com os eletrodos, em 83 sítios de registros, 109 neurônios foram registrados. Nas análises iniciais de separação do potencial de ação, 17 células não passaram pelos critérios de boa qualidade de separação e foram excluídas. Posteriormente mais 13 foram excluídas da amostra porque suas taxas de disparo não foram significativamente maiores do que a atividade espontânea (ver Materiais e Métodos, seções 3.6.1.1 e 3.6.1.2). Dessa forma, 79 células passaram para a etapa posterior de análise e apenas 3 não apresentaram modulação significativa à orientação/direção do estímulo e também foram excluídas (mais detalhes, seção 4.2). Portanto, um total de 76 células foi utilizado para as análises de invariância ao contraste.

As 76 células foram classificadas de acordo com o índice de modulação $F1/F0$ sendo a maioria classificada como complexas (84,21%). A figura 6 mostra as respostas neuronais de uma célula simples e uma complexa em forma de histogramas de tempo peri-estímulos (PSTHs), de $\text{bin}=20\text{ms}$, calculados por meio da média de 10 repetições de cada uma das condições. É notável que à medida que o contraste aumenta a amplitude da resposta também aumenta bem como é visível a existência de preferências para determinadas direções do movimento. A célula simples é direcional e apresenta predileção para apenas uma direção ($292,5^\circ$), diferindo, portanto, da célula complexa que responde para a direção preferida bem como para a anti-preferida (90° e 270°).

4.2 – Modulação pela orientação/direção e contraste

Ao analisarmos as 79 células, observamos, utilizando Two-Way ANOVA ($P < 0,05$), que uma porcentagem significativa (96,21%) foi modulada pela orientação/direção do estímulo, bem como também para o contraste (91,14%). Além disso, 74,69% das células apresentaram uma interação significativa entre direção e contraste. Aquelas células que não foram moduladas pela orientação/direção foram excluídas e 76 células seguiram para análises do fenômeno da invariância ao contraste.

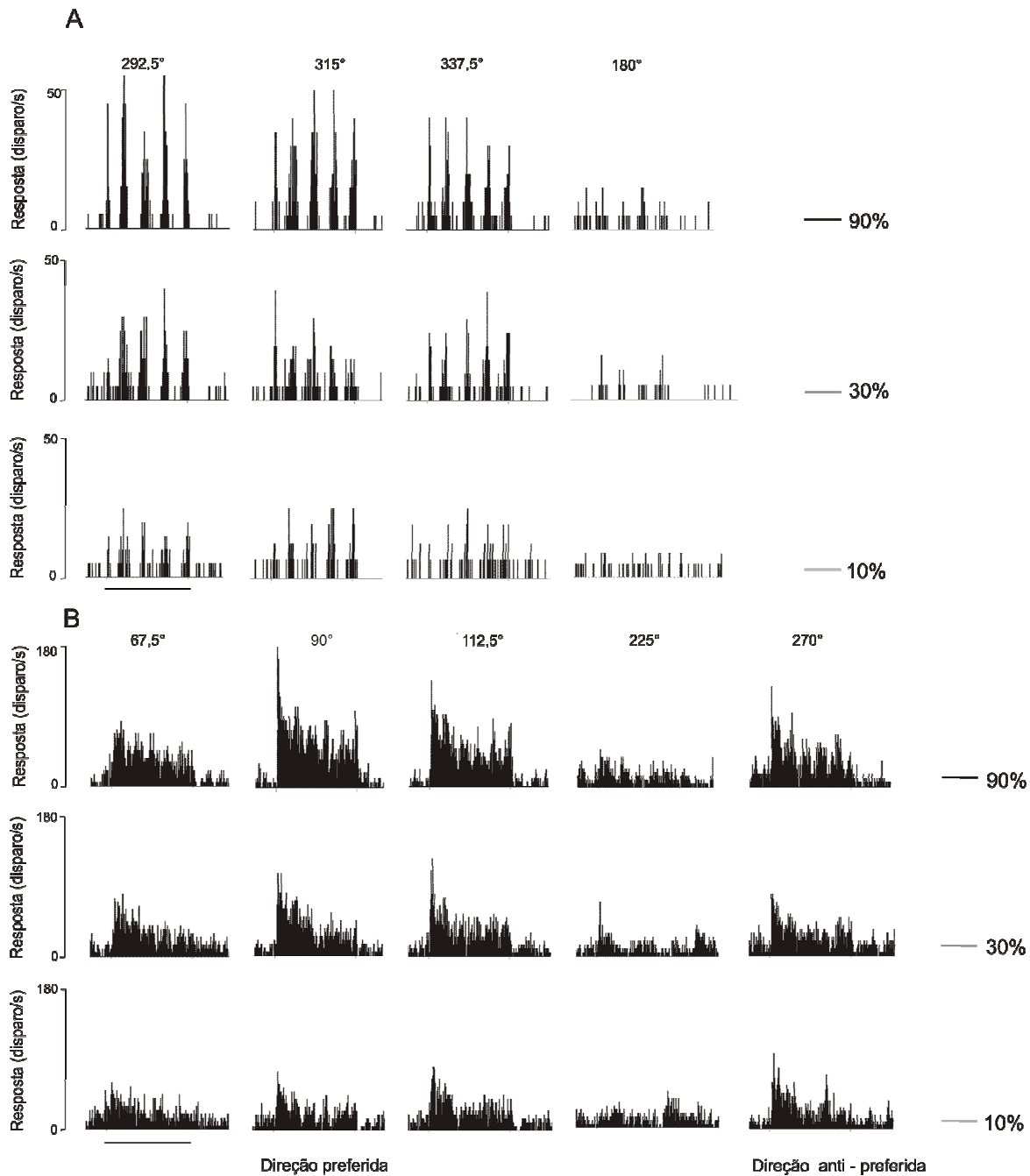


Figura 6. Respostas de duas células representativas da amostra. Em A, é apresentado uma célula simples direcional e em B uma célula complexa não-direcional. Cada linha descreve a resposta em um nível de contraste. A segunda coluna descreve a resposta na direção preferida. E na primeira e terceira colunas, respostas às direções adjacentes à preferida são apresentadas. A quarta coluna se refere à direção onde o valor da resposta é mínimo. A última coluna, no painel B, descreve a direção anti-preferida. A linha horizontal embaixo da primeira coluna representa o tempo total de estimulação, 2000ms. PSTHs com bin= 20ms.

4.3 – Invariância ao contraste

4.3.1 – Exemplos da seletividade à orientação em diferentes contrastes

Os dados das 76 células foram ajustados de acordo com a metodologia em 3.6.3. Os ajustes das curvas de seletividade à orientação foram avaliados por meio do Teste-F ($p < 0,05$), a fim de verificar a confiabilidade estatística dos valores de coeficientes de determinação (R^2) obtidos. O coeficiente de determinação indica a variância na resposta em cada condição apresentada e valores próximos a 1 demonstram que o modelo escolhido é capaz de realizar uma boa estimativa dos dados. A figura 7 apresenta os valores de R^2 para as curvas obtidas de cada célula nos três níveis de contraste, bem como a porcentagem de células que não passaram no Teste-F (3,94%, no contraste máximo, 10,52% no contraste médio e 21,05% no contraste mínimo). Os valores de mediana encontrados para cada distribuição são diferentes (0,95, 0,91, 0,89 nos contrastes máximo, médio e mínimo respectivamente), e mesmo tal diferença sendo significativa, observamos que os ajustes feitos forneceram uma boa descrição dos dados.

Após avaliação da qualidade das curvas de ajuste, 57 células foram selecionadas para as análises seguintes e os dados populacionais, descritos pela média e mediana dos parâmetros escolhidos para avaliar o fenômeno da invariância ao contraste são apresentados na tabela 1. Duas células representativas da amostra são apresentadas na figura 8, juntamente com seus valores de largura de banda e índice de direcionalidade, sendo a do painel A uma célula não-direcional e a do B uma célula direcional.

Contrastes (n =57)	90%	30%	10%
<i>Largura de banda (graus)</i>	41,2 ± 12,2	39,9 ± 11,5	36,5 ± 12,4
	41,2 [19,4]	40,7 [16,8]	35,7 [19,2]
<i>Amplitude da orientação preferida (disparos/s)</i>	25,1 ± 14,6	18,4 ± 11,2	14,3 ± 9,0
	22,8 [19,2]	16,7 [16,8]	13,0 [14,4]
<i>Amplitude resposta mínima (disparos/s)</i>	5,8 ± 5,9	5,3 ± 5,1	5,1 ± 4,7
	3,8 [5,9]	3,4 [6,2]	3,6 [5,4]

Tabela 1. Dados populacionais. As linhas superiores (em cinza) de cada parâmetro apresentam os valores médios e desvio padrão. Já nas linhas inferiores (em branco) são apresentados os valores da mediana com os valores de interquartis indicados dentro dos colchetes.

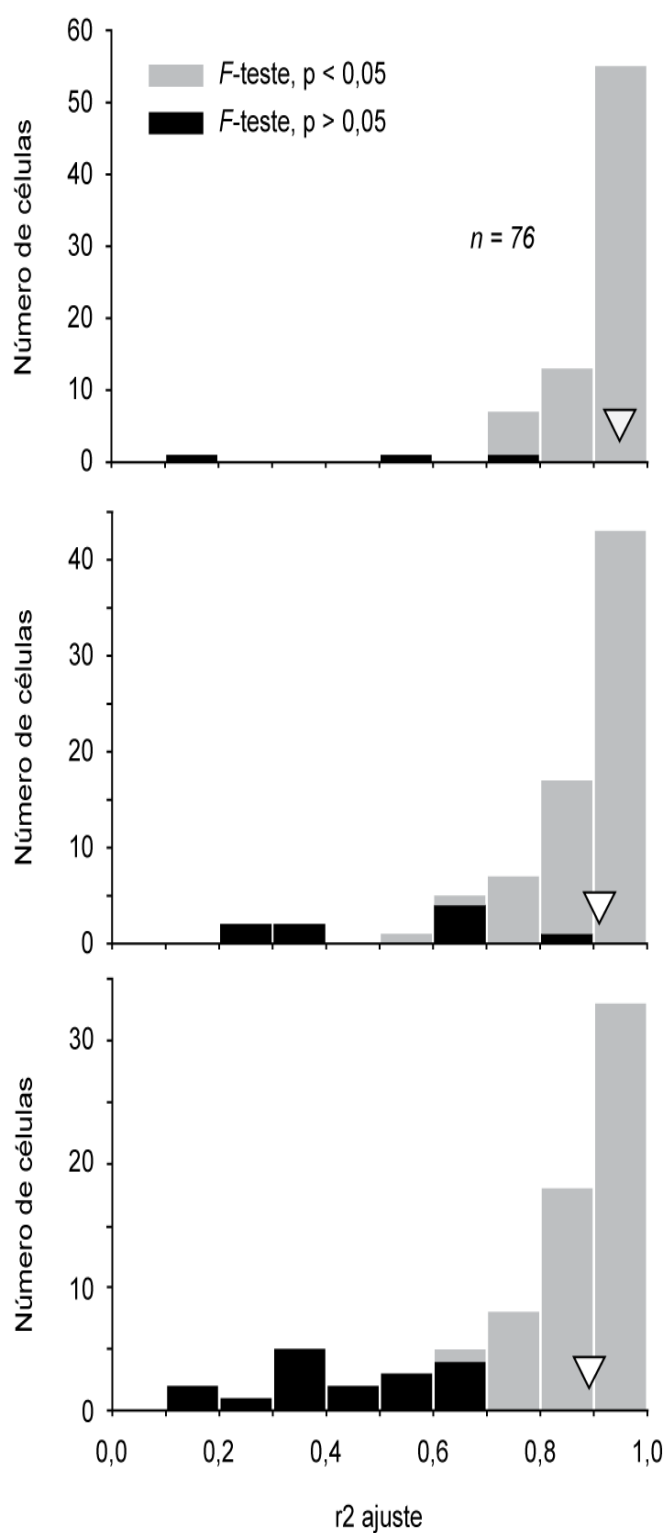


Figura 7. Distribuição dos valores de R^2 . Os valores de R^2 do contraste máximo, médio e mínimo são apresentados respectivamente, nos painéis superior, médio e inferior. Os valores de mediana de cada distribuição são indicados com a cabeça de seta.

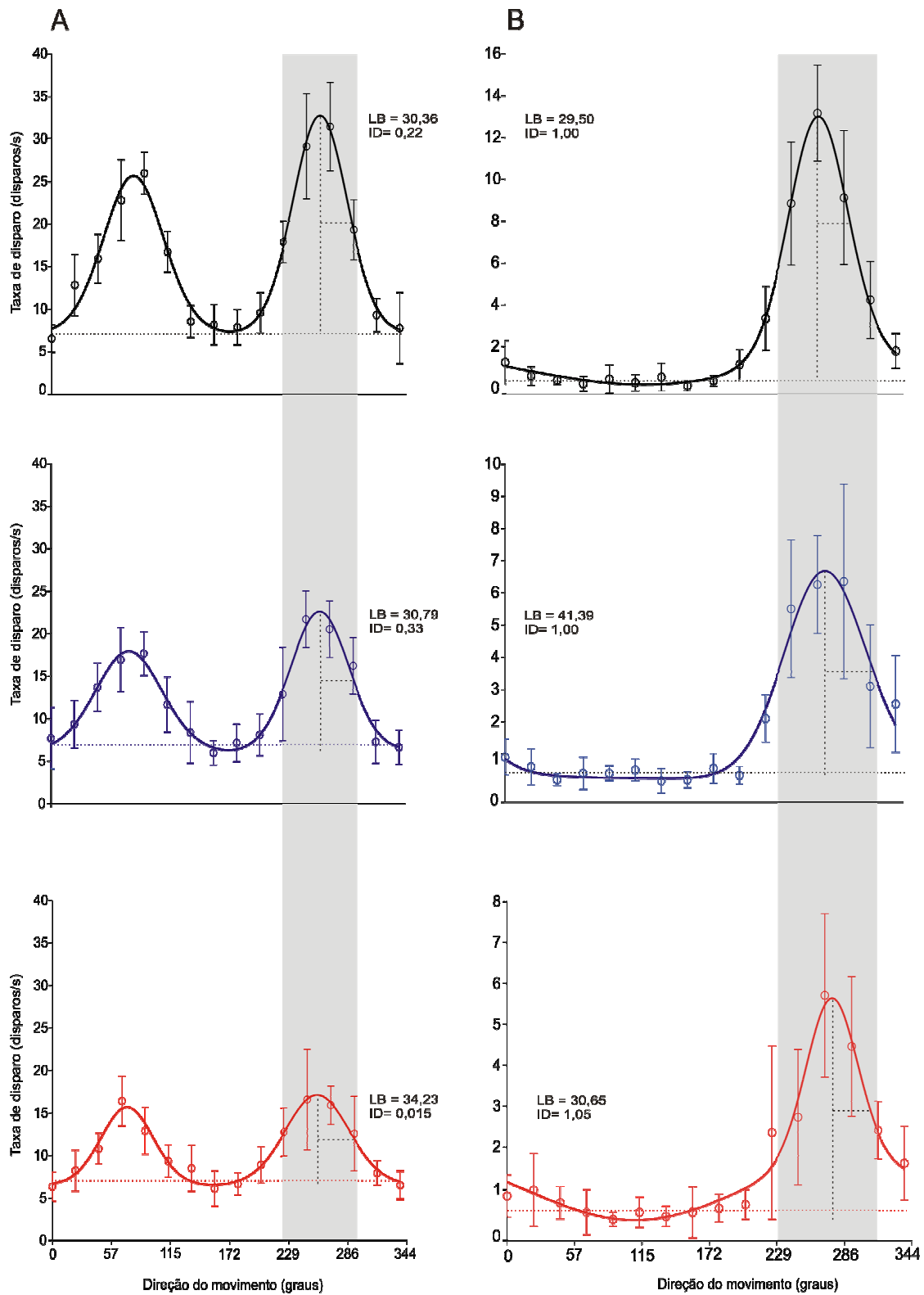


Figura 8. No painel à esquerda são apresentadas curvas de ajustes de uma célula não-direcional ($ID < 0,5$) e no painel à direita, de uma célula direcional ($ID > 0,5$), ambas representativas da amostra. As barras indicam um intervalo de confiança da média ao nível de 95%. A linha pontilhada indica os valores da atividade espontânea e a LB é indicada pela linha tracejada na metade da largura das curvas. As curvas de seletividade pretas, azuis e vermelhas, foram obtidas, respectivamente, no contraste máximo, médio e mínimo.

4.3.2 – Efeito do contraste na orientação preferida

A partir das curvas ajustadas de seletividade, cada parâmetro estabelecido (seção 3.6.3 da metodologia) foi avaliado a fim de verificar a ocorrência do fenômeno da invariância ao contraste. Os parâmetros foram comparados entre pares de contrastes por meio de t-teste pareado ou teste de Wilcoxon, $p < 0,05$ a fim de verificar mudanças em função do contraste. Além disso, para corroborar estatisticamente se tais mudanças são consistentes, a média das taxas da diferença e dos ganhos dos parâmetros também foi testada.

Inicialmente, foi avaliada a influência do contraste na seletividade da célula para a orientação preferida. Assim, ao serem comparados os valores de preferência da célula observa-se que não há mudança significativa (t-teste, Tabela 2). A figura 11A apresenta os valores da diferença da orientação preferida obtidos nos diferentes contrastes. A maioria dos valores se encontra próximo de zero indicando que ao diminuir o contraste, a célula continua seletiva para a orientação preferida. Ao ser avaliada estatisticamente, a média dessas diferenças não é significativamente diferente de zero em qualquer par de comparações de contrastes (Tabela 2).

Para avaliar como a orientação preferida muda em relação à largura de banda, a diferença da orientação preferida foi analisada juntamente com a média das LB para os pares de contrastes avaliados (Figura 9). As diagonais representam a diferença da orientação igual à \pm a média da LB, para os pares de contrastes. A maioria dos dados se encontra delimitada pelas diagonais, indicando que a diferença da orientação é menor do que a média das LB na maioria das células, demonstrando que a diferença na orientação não está atrelada a LB.

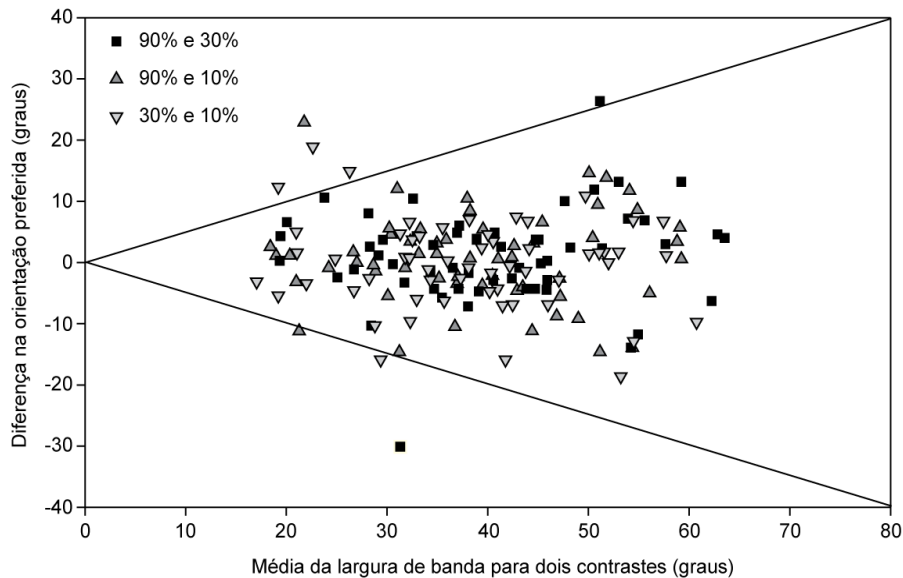


Figura 9. Relação entre mudanças na orientação preferida e a média da largura de banda. As diagonais representam a relação $y \pm 0,5x$. Os dados entre as diagonais indicam que a diferença entre as orientações é menor do que a média da largura de banda dos pares de contrastes comparados.

4.3.3 – Efeito do contraste na largura de banda da curva

Posteriormente, foi avaliado se existia alguma alteração na largura de banda. Quando comparados os valores do contraste máximo e médio, não foi observada alteração significativa na LB. Entretanto, quando comparados os contrastes máximo com o mínimo e o médio com o mínimo, foram encontradas alterações significativas na LB, ainda que estas fossem pequenas (t-teste pareado, Tabela 2).

O ganho na largura de banda é apresentado na figura 11B, onde os valores mais próximos a um, indicam que não há alteração na LB. Estatisticamente, não há ganho na LB somente ao compararmos o contraste máximo e o médio (Tabela 2), diferentemente das outras comparações, onde há um aumento na LB ao aumentarmos o contraste, portanto, a princípio, poderiam existir evidências da ocorrência do efeito “iceberg” no wulst da coruja.

Tais resultados são contraditórios aos encontrados em outros modelos experimentais em que os valores de LB são invariantes ao contraste. A fim de esclarecer tal controvérsia, foram avaliadas as correlações entre os ganhos na LB e os ganhos na amplitude da resposta. A figura 10 apresenta as correlações para os pares de contrastes e os valores encontrados para o contraste 90% vs. 30%, e para 30% vs. 10% indicam uma correlação negativa e inversa ($Rho = -0.44$; $p < 0,001$ e $Rho = -0.3319$; $p < 0,05$, respectivamente). Já para 90% vs.

10% não há correlação significativa ($Rho = -0.2068$; $p=0.1227$). Portanto, a hipótese da ocorrência do efeito “iceberg” não encontrou respaldo nos resultados encontrados.

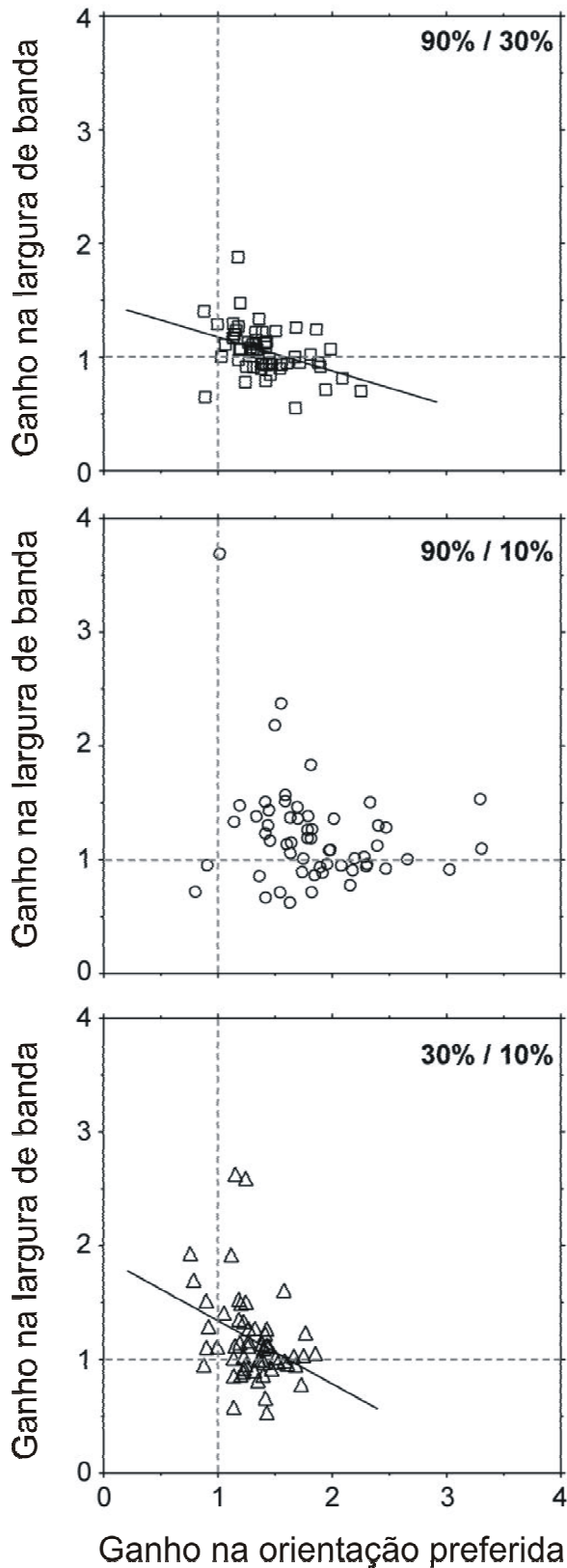


Figura 10. Correlações entre os ganhos na orientação preferida e na largura de banda. Na figura superior (contrastes máximo vs. mínimo) e na figura inferior (contrastes médio vs. mínimo) há uma correlação inversa indicando a tendência de diminuição da largura de banda ao aumentar o contraste. Na figura intermediária (contraste máximo vs. mínimo) não há correlação, ou seja, não há alteração na LB ao aumentar o contraste.

Comparação entre contrastes (n =57)	90% vs. 30%	90% vs. 10%	30% vs.10%
Diferença na orientação preferida	1,08 ± 7,96	0,69 ± 7,50	0,39 ± 7,30
<i>Média ≠ 0 ?</i>	(ns)	(ns)	(ns)
<i>t-teste população</i>	(ns)	(ns)	(ns)
	2,29 [7,79]	0,86 [8,59]	0,28 [9,08]
<i>Mediana ≠ 0 ?</i>	—	—	—
<i>Wilcoxon população</i>	—	—	—
Ganho na largura de banda	1,05 ± 0,22	1,22 ± 0,47	1,17 ± 0,39
<i>Média ≠ 1 ?</i>	—	—	—
<i>t-teste população</i>	(ns)	**	*
	1,06 [0,25]	1,14 [0,44]	1,10 [0,33]
<i>Mediana ≠ 1 ?</i>	(ns)	***	**
<i>Wilcoxon população</i>	—	—	—
Ganho na orientação preferida	1,41 ± 0,29	1,85 ± 0,51	1,31 ± 0,24
<i>Média ≠ 1 ?</i>	—	****	****
<i>t-teste população</i>	—	—	—
	1,38 [0,36]	1,78 [0,65]	1,27 [0,26]
<i>Mediana ≠ 1 ?</i>	****	—	—
<i>Wilcoxon população</i>	****	****	****
Ganho na resposta mínima	1,11 ± 0,40	1,2 ± 0,61	1,07 ± 0,30
<i>Média ≠ 1 ?</i>	—	—	—
<i>t-teste população</i>	—	—	—
	1,01 [0,44]	1,10 [0,51]	1,03 [0,24]
<i>Mediana ≠ 1 ?</i>	(ns)	*	(ns)
<i>Wilcoxon população</i>	(ns)	(ns)	(ns)

Tabela 2. Comparação dos parâmetros em diferentes contrastes (máximo vs. médio, máximo vs. mínimo e médio vs. mínimo). As linhas superiores cinzas de cada parâmetro apresentam os valores médios ± desvio padrão. Já nas linhas inferiores cinzas são apresentados os valores da mediana com os valores de interquartis dentro dos colchetes. Populacionalmente os parâmetros foram comparados com t-teste pareado ou Wilcoxon, quando pertinente. Os valores da diferença na orientação preferida e dos ganhos nos demais parâmetros foram testados a fim de verificar se eram diferentes de 0 e 1 respectivamente.

* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 e **** p < 0,0001

— não se aplica (Teste de normalidade)

(ns) não- significativo.

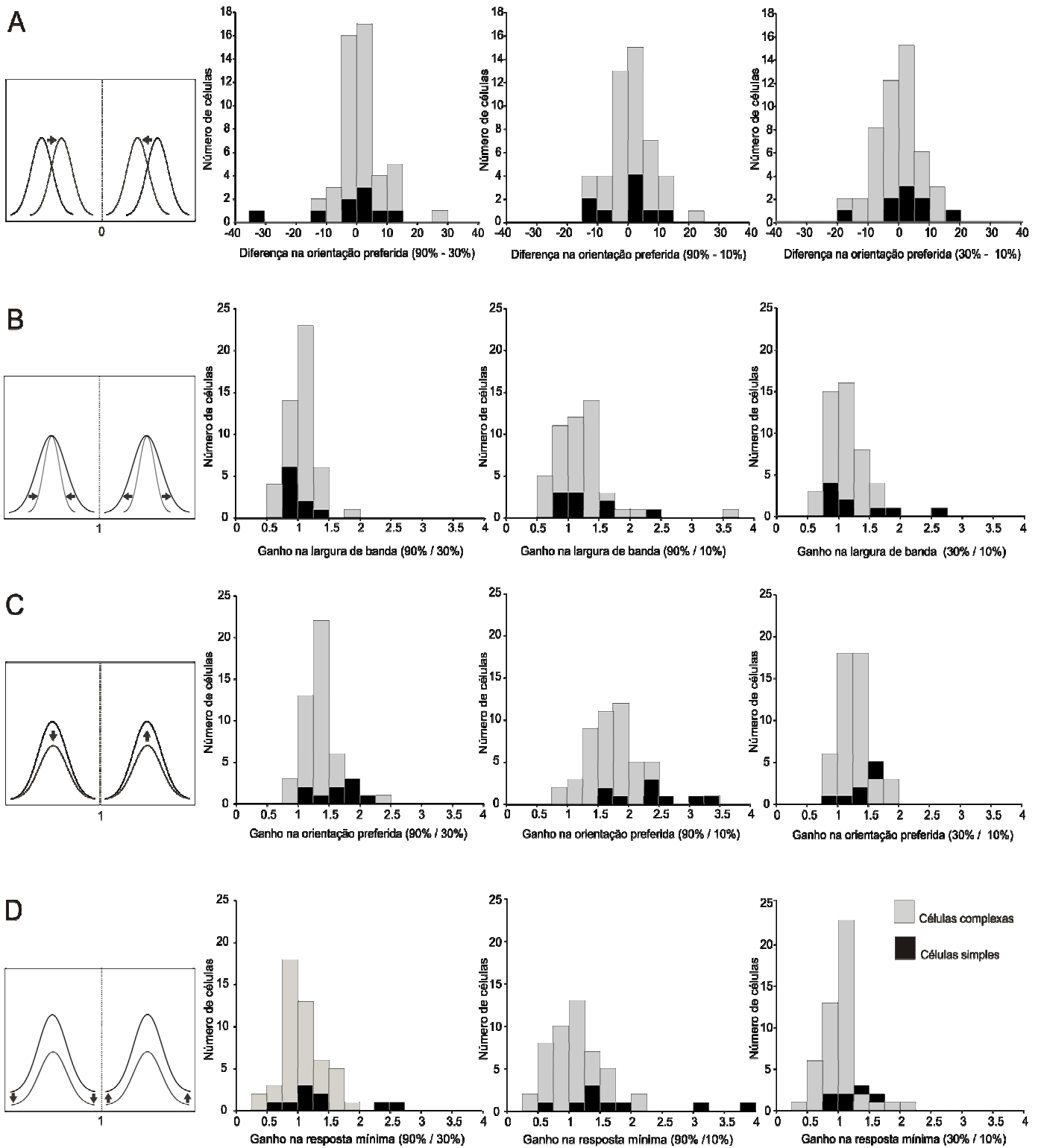


Figura 11. Efeitos do contraste na seletividade à orientação. Em A, a diferença na orientação preferida foi comparada entre os níveis de contraste. Quanto mais próximos de zero, menor é a diferença encontrada. Em B, C e D, são apresentados os valores do ganho na largura de banda, na resposta máxima e na resposta mínima. Quanto mais próximos de um, demonstra-se que os parâmetros não variam com o contraste. Observa-se que há pequenas alterações na LB e na resposta mínima quando comparados os contrastes máximo e mínimo e claramente se visualiza a mudança na resposta em função do contraste. O padrão dos histogramas observados para as células complexas é semelhante para as células simples.

4.3.4 – Efeito do contraste no ganho da resposta na orientação preferida

Conforme o esperado, a amplitude da resposta varia ao mudarmos o contraste. Assim, para a maioria das células, a resposta é maior no contraste máximo e menor no contraste mínimo (Teste Wilcoxon, Tabela 2; figura 8).

O ganho na resposta à orientação preferida é apresentado na figura 11C, e observa-se que comparando os contrastes 90% vs. 30%, cerca de 5% das células apresentam o ganho menor do que 1. Nas comparações 90% vs. 10%, e 30% vs. 10%, a proporção encontrada é cerca de 3% e 7% das células, respectivamente. Esses achados poderiam indicar um fenômeno de supersaturação, entretanto, trabalhos recentes do nosso grupo não favorecem tal hipótese (Vieira, 2010).

4.3.5 – Efeito do contraste no ganho da resposta mínima

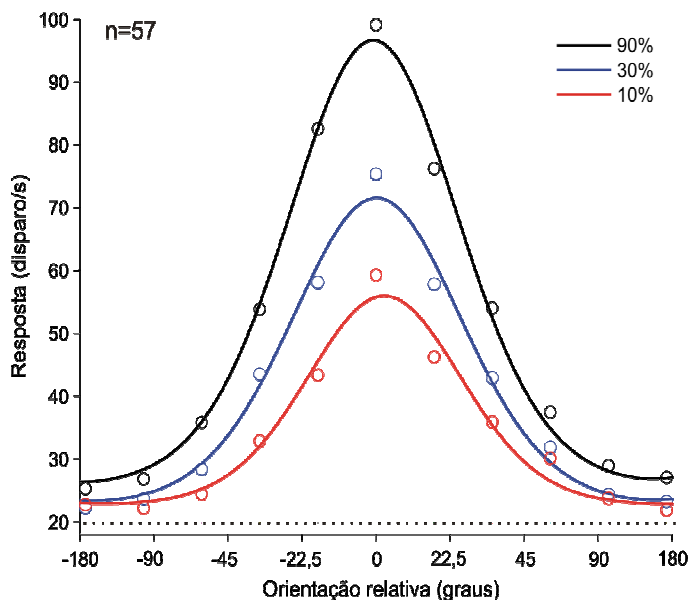
Com relação aos valores da resposta mínima não foi encontrada diferença significativa entre eles (Teste Wilcoxon, Tabela 2). Quando analisado o ganho da resposta mínima, foi observado que houve ganho apenas ao comparar os contrastes máximo e mínimo, entretanto, tal diferença apesar de significativa é muito pequena (Tabela 2; figura 11D).

Isto significa, portanto, que não há uma reescala significativa das curvas de seletividade, acrescentando evidências que desfazem a hipótese do efeito “iceberg”.

4.4 – Dados populacionais

Visando avaliar de outra maneira as mudanças nas curvas de seletividade em função do contraste, curvas para toda a população foram construídas. As respostas de cada célula foram normalizadas e alinhadas em torno da orientação preferida relativa e posteriormente, a média da resposta em cada orientação das 57 células foi utilizada para a construção da curva de seletividade. As curvas foram, então, ajustadas e os parâmetros estabelecidos para avaliar a invariância ao contraste foram analisados (Figura 12)

Dessa forma, foi observado que a orientação preferida, a largura de banda e a resposta mínima se alteram na população analisada. Entretanto, tais alterações são muito pequenas em função do contraste (Tabela da Figura 12).



Contrastes (n = 57)	90%	30%	10%
Largura de banda (graus)	38,38	38,24	35,23
Amplitude da orientação preferida (disparos/s)	96,66	71,58	55,98
Orientação preferida (graus)	-1,08	0,34	3,21
Amplitude resposta mínima (disparos/s)	26,36	23,37	22,82

Figura 12. Curvas populacionais de seletividade à orientação em diferentes contrastes. As respostas das células foram normalizadas e a média das mesmas foram alinhadas em torno da orientação preferida relativa. Os parâmetros apresentados na tabela foram obtidos após o ajuste das curvas. A linha pontilhada representa a atividade espontânea.

4.5 – Seletividade à direção em diferentes níveis de contraste

O índice de direcionalidade (ID) foi calculado para toda a população (n=76) e dessa amostra, 73,68% das células são direcionais, ou seja, com $ID \geq 0,5$ e as demais são bidirecionais ($ID \leq 0,5$), em resposta ao estímulo no contraste máximo. Buscando avaliar a influência do contraste na seletividade da célula à direção do movimento, os IDs foram calculados em diferentes níveis de contraste e posteriormente comparados. Os valores médios encontrados nos contrastes máximo, médio e mínimo, respectivamente, foram: $0,66 (\pm 0,27)$; $0,71 (\pm 0,30)$; $0,73 (\pm 0,34)$. A figura 13 apresenta a distribuição dos valores de ID de cada célula nos três níveis de contraste. Observa-se que as células direcionais, especialmente aquelas com IDs próximos a 1, apresentam pouca alteração na seletividade a direção ao mudar o contraste.

Ao compararmos os IDs por meio do teste-t pareado, observamos que não há mudança estatisticamente significativa dentro da subpopulação das células direcionais (Figura 14A). Porém, na subpopulação de células não-direcionais, há uma tendência a alterações do ID em função do contraste. Isso porque quando comparado os valores entre os contrastes máximo e mínimo

(Figura 14B), foi encontrado $p < 0,05$ e quando comparados máximo e médio, o $p = 0,07$, que é muito próximo do limiar de significância estabelecido.

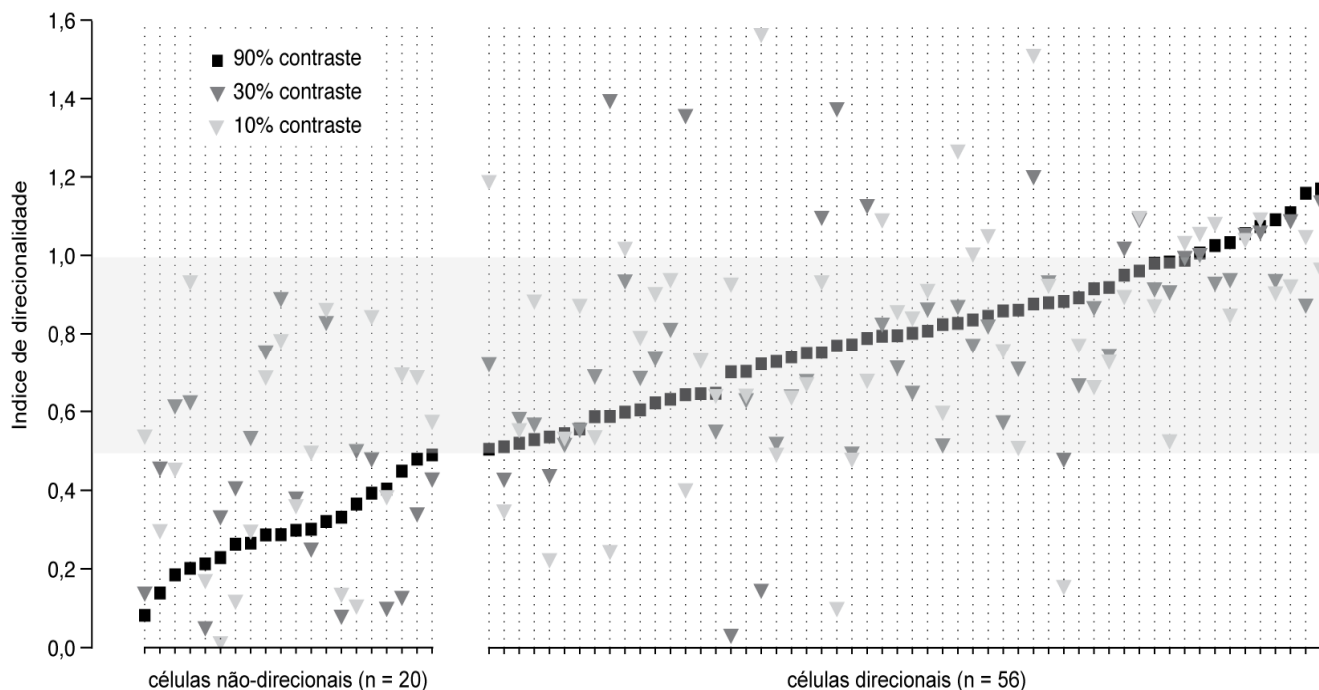


Figura 13. Distribuição dos índices de direcionalidade nos três níveis de contraste. A maioria das células do wulst são seletivas para a direção do movimento. As células direcionais com valores de ID próximos ou maiores que 1, sofrem poucas alterações na seletividade em função do contraste.

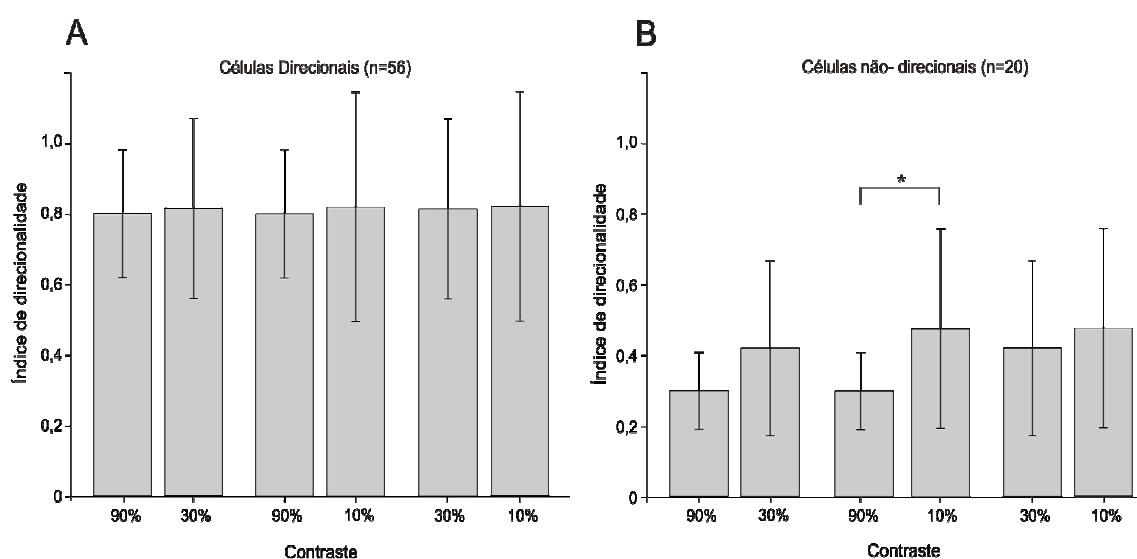


Figura 14. Análise da variação do ID em função do contraste. Em A, as células direcionais não apresentam alterações significativas na seletividade em função do contraste. Em B, a variação do contraste altera a seletividade das células não-direcionais, sendo tais alterações significativas na comparação contraste máximo vs. mínimo. As barras indicam o desvio padrão. * $p < 0,05$

4.6 – Avaliação comparativa em estudos com coruja buraqueira

Para efeitos comparativos, na figura 15 é apresentado a distribuição do ID e da LB encontrados pelo nosso grupo em resposta ao contraste máximo e a descrita em Baron et al., (2007), que foram representados pela linha sólida. Observa-se que os dados do presente estudo apresentam valores de LB maiores (a distribuição está mais deslocada para a direita), e a média das duas populações são significativamente diferentes (28° em Baron et al., 2007 e 41° no atual estudo). Já as distribuições de IDs são mais semelhantes, apresentando a maioria das células como direcionais e dentro dessa subpopulação, os valores de ID se concentram próximos a 1.

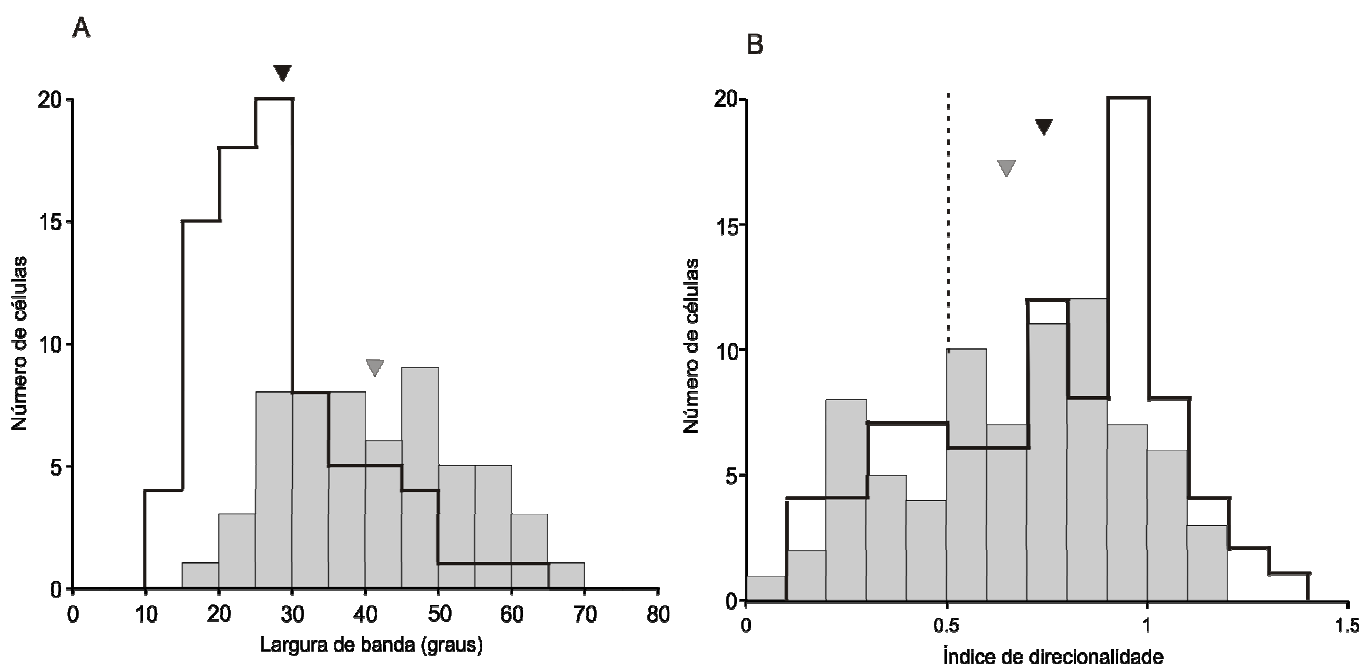


Figura 15. A. Distribuição dos valores de largura de banda (LB) para o contraste máximo. B. Distribuição dos índices de direcionalidade (ID). A linha tracejada indica o valor de corte entre células direcionais (ID >0,5) e bidirecionais (ID <0,5). O valor da média de cada distribuição é indicado pela cabeça de seta cinza. As linhas sólidas reproduzem as distribuições de LB e ID de Baron et al, 2007, e as cabeças de seta preta indicam os valores da média.

DISCUSSÃO

5 – DISCUSSÃO

5.1 – Resumo dos resultados encontrados

Desde os estudos pioneiros de Pettigrew e colaboradores no final da década de 1970, uma importante analogia funcional vem sendo estabelecida entre o wulst visual da coruja e o córtex visual primário (V1) de mamíferos. Essas duas áreas não só recebem suas projeções principais da via retino-tálamo-fugal, como também contêm células que possuem campos receptores com propriedades surpreendentemente similares. Como tais semelhanças funcionais provavelmente não foram derivadas a partir de um ancestral comum, compreender as pressões evolutivas que conduziram essa evolução convergente podem fornecer importantes *insights* sobre os princípios gerais que governam a implementação de soluções neuronais para o processamento visual. A maioria dos trabalhos eletrofisiológicos realizados até então no wulst visual da coruja enfocaram na caracterização dos mecanismos neuronais relacionados à disparidade binocular e estereopsia. Nos últimos quatro anos, vários projetos do nosso grupo foram realizados com o intuito de determinar como outros atributos visuais básicos (ex: contraste, frequências espacial e temporal, direção/velocidade do movimento, cor) são representados ao nível celular nessa estrutura e até qual ponto a representação neuronal desses atributos é similar a do córtex visual no mamífero.

Em continuidade com essa linha de pesquisa, o presente estudo procurou avaliar a presença do fenômeno da invariância ao contraste no wulst visual da coruja, mais especificamente a coruja-buraqueira. Uma vez que, de acordo com Pettigrew (1979), neurônios do tálamo visual na coruja são funcionalmente análogos aos do NGL de mamíferos, e que a maioria dos neurônios do wulst é seletiva à orientação, cogitamos que o problema em manter essa seletividade apesar de amplas variações de contraste deve se colocar de forma comparável na coruja como no primata.

Resumindo os resultados encontrados observamos que ao aumentarmos o contraste: a) a largura de banda das curvas de seletividade sofre um pequeno aumento; b) porém, este fenômeno não é compatível com um simples efeito 'iceberg' já que não há uma correlação positiva entre ganhos

de resposta na orientação preferida e o ganho na largura da banda; c) não há alterações na orientação preferida das células; d) os valores de resposta mínima variam em algumas células, re-escalando um pouco a curva média de seletividade da amostra para cima; d) a seletividade das células não-direcionais aumenta ao diminuir o contraste.

5.2 – Considerações metodológicas

A compreensão atual do processo de emergência da seletividade à orientação no sistema visual dos mamíferos é baseada, principalmente, em estudos experimentais realizados em animais que foram anestesiados e imobilizados com uma variedade de agentes farmacológicos. No presente estudo, os dados foram obtidos em corujas despertas, deixando em aberto a possibilidade de que algumas discrepâncias entre o nosso estudo e outros são, na verdade, devido a diferenças na preparação dos registros. Apesar de escassas, as evidências disponíveis são de fato consistentes com essa hipótese.

No córtex visual de mamíferos, já foi demonstrado que várias propriedades básicas do campo receptivo alteram-se dependendo se o animal está acordado ou anestesiado (Lamme *et al.*, 1998; Guo *et al.*, 2004), e dependendo de qual tipo ou a dose de anestesia é utilizada (Ikeda e Wright, 1974; Villeneuve e Casanova, 2003).

Mais especificamente com relação ao contraste, existem evidências que a anestesia pode levar a redução do limiar de sensibilidade, bem como diminuir os níveis de repostas neuronais para valores de contraste máximo (Ikeda e Wright, 1974; Solomon *et al.*, 1999). Com relação à seletividade à orientação, trabalhos realizados em primatas anestesiados e acordados tem demonstrado diferenças nas taxas de atividade espontânea, que conseqüentemente, refletem alterações no balanço excitatório e inibitório das células corticais, alterando por sua vez a seletividade. Exemplo disso, é que a porcentagem encontrada de células altamente seletivas com $LB < 15^\circ$ é de apenas 6% em animais anestesiados e em animais alertas é de 26% (Ringach *et al.*, 2002; Gur *et al.*, 2005).

As evidências acima indicam, portanto, a necessidade de sermos cautelosos ao assumirmos uma correspondência direta entre os dados obtidos com diferentes preparações de registro. É importante ter em mente também que nossos registros em animais acordados foram realizados com a restrição dos movimentos da cabeça da coruja em que nenhum procedimento de condicionamento para incentivar a fixação de um determinado ponto na tela foi necessário para se estudar as propriedades de resposta dos CRs. Isso foi possível porque a movimentação dos olhos é desprezível em aves como as corujas (Cooper and Pettigrew, 1979). Entretanto, uma limitação de nossa preparação experimental é que ela não permite ter um controle sobre possíveis influências de estados comportamentais na atividade neuronal. Dessa maneira, a mudança do estado atencional do animal durante os registros, por exemplo, poderia influenciar os resultados, já que vários estudos mostram que a atenção espacial modula as propriedades de respostas dos neurônios do córtex visual de mamíferos (Gandhi *et al.*, 1999; Kastner e Ungerleider 2000; Reynolds e Chelazzi 2004; Carrasco *et al.*, 2004; Carrasco, 2006). Nesses estudos, foram registradas as respostas de neurônios isolados do córtex visual de primatas, treinados a prestar atenção ou ignorar um determinado estímulo, apresentado dentro ou fora do campo receptor dos neurônios. As observações decorrentes desses estudos demonstram que a maioria das células apresenta uma taxa de disparo maior quando o animal presta atenção a um estímulo localizado dentro do seu campo receptor. Se o estímulo é novamente apresentado no mesmo local, mas com a atenção do animal alocada em uma outra região do campo visual, a resposta evocada por esse estímulo é significativamente menor (para revisão, ver Kastner e Ungerleider 2000; Reynolds e Chelazzi 2004).

Como os potenciais efeitos da atenção nas respostas dos neurônios do wulst não foram controlados, é possível que flutuações endógenas do estado atencional da coruja poderiam ter alterado nossos resultados. Claramente, a discussão acima destaca a necessidade de novos trabalhos para investigar se e como a atenção exerce uma influência no wulst, uma questão que ainda não foi tratada.

5.3 – Invariância ao contraste

O fenômeno da invariância ao contraste já foi avaliado em gatos (Sclar & Freeman, 1982; Skottun *et al.*, 1987, Ferster e Miller, 2000; Anderson *et al.*, 2000; Finn *et al.*, 2007), macacos (Carandini *et al.*, 1997; Shapley *et al.*, 2002; Nowak e Barone, 2009), esquilos (Van Hooser *et al.*, 2005) e furões (Allitto e Usrey, 2004). Porém, tal fenômeno ainda não foi estudado em nenhuma das duas vias visuais principais de aves.

Os registros eletrofisiológicos dos trabalhos citados foram realizados em animais anestesiados, e foram utilizados, na maioria dos trabalhos, estímulos semelhantes aos do presente estudo, assim como os parâmetros estabelecidos para avaliar tal fenômeno também foram os mesmos.

É importante ressaltar que a invariância ao contraste tem sido estudada de forma mais criteriosa somente em gatos. São poucos os trabalhos em outros modelos experimentais, inclusive em primatas. Com relação aos primatas, alguns trabalhos são superficiais no que tange a apresentarem dados que corroborem com a invariância ao contraste (Carandini *et al.*, 1997) e outros demonstram que o fenômeno não ocorre em V1, ao utilizar outros parâmetros de avaliação (Shapley *et al.*, 2002). O trabalho mais descritivo e detalhado acerca do fenômeno foi realizado por Nowak e Barone (2009). Segundo esses autores, o contraste altera a curva de seletividade à orientação e a adaptação ao contraste teria um papel importante para minimizar essas alterações, e consequentemente, contribuir para a ocorrência da invariância ao contraste em V1. Assim, percebe-se que generalizações sobre a ocorrência da invariância nos diferentes modelos e sobre possíveis mecanismos inerentes ao fenômeno devem ser feitos com cautelas.

Em geral o que se observa nos demais modelos experimentais é que os valores da orientação preferida, bem como da largura de banda e da resposta mínima não variam, ocorrendo apenas um aumento na amplitude da resposta com o aumento do contraste, caracterizando, portanto, a invariância ao contraste no córtex visual primário. Os resultados obtidos a partir dos registros dos neurônios do wulst, em parte se assemelham aos demais modelos: a seletividade da célula para a orientação preferida não varia, a resposta mínima se altera muito pouco, e a amplitude da resposta aumenta em função do

aumento do contraste. Entretanto, foi observado que a largura de banda se altera em função do contraste, ainda que tais alterações sejam pequenas e foram encontradas quando comparados o contraste máximo com o mínimo e o médio com o mínimo. No entanto, tais alterações na LB, não significam que efetivamente o efeito “iceberg” acontece nas células do wulst.

Por outro lado, não se pode afirmar com precisão que o fenômeno da invariância ao contraste também ocorre no wulst visual da coruja. Isso porque foram encontradas células com respostas invariantes ao contraste quanto com respostas variantes.

Portanto, a proposição de mecanismos subjacentes ao fenômeno no wulst não podem ser feitos, a princípio, sendo necessários estudos complementares. Não há estudos, por exemplo, sobre a ocorrência do fenômeno de adaptação ao contraste no wulst visual da coruja buraqueira.

Outra consideração a ser feita é que, as camadas mais profundas do wulst (IHA e HD) recebem a maior parte das projeções talâmicas e a camada mais superficial (HA) é a fonte de projeções para alvos extra - telencefálicos e intra-telencefálicos (Karten, 1973; Shimizu *et al.*, 1999). No entanto, no presente estudo não foi realizado um controle rigoroso dos locais de registro, com lesões eletrolíticas ao final dos registros a fim de confirmar posteriormente por meio da histologia em quais camadas do wulst se encontravam as células registradas. Dessa maneira, não é possível estabelecer com certeza se as células registradas estão recebendo aferências talâmicas diretas, ou se são células constituintes da camada HA e, conseqüentemente, se há alguma relação com o fato de encontramos células com respostas invariantes e variantes ao contraste. Ademais, ainda são necessários mais trabalhos caracterizando as propriedades eletrofisiológicas do NGL, e sua relação no papel da geração das respostas neuronais no wulst da coruja-buraqueira e conseqüentemente na emergência da seletividade à orientação.

5.4 – Tamanho do estímulo e invariância da seletividade à orientação.

As discrepâncias encontradas na largura de banda entre o presente estudo e os achados do nosso grupo, podem ser explicadas em função dos tamanhos dos estímulos utilizados e os mecanismos de supressão existentes

no wulst (figura 15 A). Neste trabalho, os estímulos foram otimizados de forma que ocupassem o tamanho exato do campo receptivo do neurônio em registro. Aqueles registros em que eventualmente não tivéssemos dados quantitativos do tamanho do campo foram utilizados dados qualitativos, provenientes da audição do disparo do neurônio a diferentes tamanhos de estímulos. Portanto, em nossa amostragem o tamanho máximo de estímulo utilizado foi de 3,6°. Já em Baron *et al.*, 2007, os tamanhos utilizados foram de 6°. Essas considerações são importantes porque em trabalhos com primatas utilizando o mesmo tipo de estímulo de nossos estudos (grades senoidais em movimento), tem sido demonstrado que a estimulação além do campo receptivo clássico resulta em um estreitamento da largura de banda (Chen *et al.*, 2005; Xing *et al.*, 2005; Okamoto *et al.*, 2009), devido a mecanismos de supressão.

Achados recentes do nosso grupo (Turchetti-Maia e Baron, 2010) demonstraram que estes mecanismos de supressão também ocorrem no wulst. Dessa forma, a diferença encontrada nas LBs em ambos estudos poderia ser decorrente da atuação destes mecanismos aos diferentes tamanhos de estímulos utilizados nos estudos.

5.5 – Correlatos perceptuais

A importância do wulst na competência visual das corujas ainda não foi investigada diretamente. Não sabemos, por exemplo, se essa área telencefálica é primária no sentido funcional do termo, a saber, se a sua remoção ou inativação causaria déficit visuais a ponto talvez de exibir sintomas análogos a cegueira cortical como conhecida em humanos. Entretanto, diversas evidências fisiológicas e anatômicas (vide parte 1.5 da Introdução) sugerem fortemente que o wulst é fundamental para o surgimento de várias capacidades visuais da coruja, como a estereopsia (Nieder e Wagner, 2000, 2001a; van der Willigen, 2011), a percepção de contornos ilusórios (Nieder e Wagner, 2001b), a extração de superfície a partir do movimento (van der Willigen *et al.*, 2002, 2003) e a atenção espacial (Ohayon *et al.*, 2008).

Neste contexto, mesmo na ausência de estudos psicofísicos avaliando, na coruja, limiares de discriminação relativos à orientação ou direção do movimento em função do contraste, julgamos pertinente discutir brevemente o

significado de nossos resultados para a capacidade perceptiva de nosso modelo experimental. Obviamente, o poder de predição de nossas inferências depende da veracidade de pelo menos três pressupostos: 1) a população de células amostradas no presente estudo reflete a tendência central da resposta média evocada no wulst como um todo; 2) o wulst contribui diretamente e decisivamente na discriminação à orientação de contornos; e 3) a mesma depende da atividade diferencial de neurônios do wulst seletivos à orientação, de tal forma que um aumento na largura da banda resulta numa piora na discriminação à orientação.

Teoricamente, a habilidade de fazer julgamentos precisos sobre a orientação de contornos é um passo indispensável para o reconhecimento e segmentação de objetos que compõem uma cena visual. Preservar essa capacidade independentemente do nível de contraste desses contornos em relação a seus redores é supostamente vantajoso em diversas situações comportamentais, especialmente para um predador principalmente crepuscular como a coruja-buraqueira.

A literatura psicofísica acerca do problema da estabilidade dos limiares diferenciais de discriminação à orientação em função do contraste é relativamente abundante no homem, e somente nele, porém, não é consistente. Vários trabalhos demonstraram que essa capacidade de discriminação é invariante (Skottun *et al.*, 1987; Itti *et al.*, 2000). Outros estudos indicam que a capacidade de discriminação é dependente da interação entre dois fatores: o contraste e o tamanho do estímulo (Nasanen *et al.*, 1997; Mareschal e Shapley, 2004). Em geral, os limiares de discriminação à orientação são elevados a baixo contraste para estímulos pequenos, mas se tornam independentes do contraste quando o tamanho do estímulo é substancialmente aumentado. Se este padrão for se confirmar na coruja, ele seria incompatível com a noção de que o wulst seria uma peça chave para explicá-lo, visto que achamos uma fraca, porém significativa, tendência dos neurônios dessa estrutura serem menos seletivos à orientação à medida que o contraste da grade senoidal for aumentando. Talvez essa tendência não seja expressiva o suficiente quando relativizado ao ganho em resposta observado neste caso, o que, provavelmente (não avaliamos isso, mas é visível na Figura 10), seria acompanhado, por sua vez, de um aumento relativo na variabilidade

da resposta neuronal (Tolhurst *et al.*, 1983; Vogels e Orban, 1990; Celebrini e Newsome, 1994) e, conseqüentemente, de uma diminuição na confiabilidade em sinalizar pequenas diferenças de orientação.

Com relação ao efeito do contraste na seletividade à direção, mostramos que as células não-direcionais do wulst tendem a se tornarem mais direcionais ao diminuir o contraste. De maneira semelhante, registros eletrofisiológicos realizados em gatos também apresentaram tal tendência (Peterson *et al.*, 2006). Esses achados eletrofisiológicos são, num primeiro nível de análise, consistentes com vários estudos psicofísicos em humanos que tem demonstrado que há uma melhoria na capacidade de discriminação da direção do movimento em níveis de contrastes baixos (Derrington e Goddard, 1989; Tadin *et al.*, 2003). Nossos resultados são compatíveis com a noção de que tal fenômeno perceptual deve também ser expresso na coruja. Possivelmente, isso pode ser uma estratégia para tornar objetos em movimentos mais visíveis e discrimináveis em baixa condição de iluminação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

Baron,J., Pinto,L., Dias,M.O., Lima,B. & Neuenschwander,S. (2007) Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. *European Journal of Neuroscience*, 26, 1950-1968.

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

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

Bishop, P.O., Coombs, J.S., and Henry, G.H. (1973). Receptive fields of simple cells in the cat striate cortex. *Journal of Physiology*, 231, 31–60.

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

Callaway,E. (2004) Cell Types and Local Circuits in Primary Visual Cortex of the Macaque Monkey.In: *The Visual Neuroscience*, MIT Press., Vol 1, 680-691.

Campbell, F.W., and Kulikowski, J.J. (1966) Orientational selectivity of the human visual system. *Journal of Physiology*, 187, 437–445.

Carandini, M., Heeger, D.J., and Movshon, J.A. (1997). Linearity and normalization in simple cells of the macaque primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*. 17,8621–8644

Carandini,M. & Ferster,D. (2000) Membrane potential and firing rate in cat primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 20, 470-484.

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

Carrasco,M., Ling,S. & Read,S. (2004) Attention alters appearance. *Nature Neuroscience*, 7, 308-313.

Carrasco,M. (2006) Covert attention increases contrast sensitivity: psychophysical, neurophysiological and neuroimaging studies. *Visual*

Perception, Part 1, Fundamentals of Vision: Low and Mid-Level Processes in Perception, 154, 33-70.

Celebrini, S. & Newsome, W.T. (1994) Neuronal and Psychophysical Sensitivity to Motion Signals in Extrastriate Area Mst of the Macaque Monkey. *Journal of Neuroscience*, 14, 4109-4124.

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

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

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

Cooper ML, Pettigrew JD. (1979) A neurophysiological determination of the vertical horopter in the cat and owl. *Journal of Comparative Neurology*, 184, 1-26.

Derrington, A.M. & Goddard, P.A. (1989) Failure of Motion Discrimination at High Contrasts - Evidence for Saturation. *Vision Research*, 29, 1767-1776.

Devalois, R.L., Yund, E.W. & Hepler, N. (1982) The Orientation and Direction Selectivity of Cells in Macaque Visual-Cortex. *Vision Research*, 22, 531-544.

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

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

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

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

Fester, D. (2004) Assembly of Receptive Fields in primary Visual Cortex. In: *The Visual Neuroscience*. Vol 1, 699-703.

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

Gandhi, S.P., Heeger, D.J. & Boynton, G.M. (1999) Spatial attention affects brain activity in human primary visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 3314-3319.

- Gardner, J.L., Anzai, A., Ohzawa, I. & Freeman, R.D. (1999) Linear and nonlinear contributions to orientation tuning of simple cells in the cat's striate cortex. *Visual Neuroscience*, 16, 1115-1121.
- Ghim, M.M. & Hodos, W. (2006) Spatial contrast sensitivity of birds. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 192, 523-534.
- Guo, K., Benson, P.J. & Blakemore, C. (2004) Pattern motion is present in V1 of awake but not anaesthetized monkeys. *European Journal of Neuroscience*, 19, 1055-1066.
- Gur, M., Kagan, I. & Snodderly, D.M. (2005) Orientation and direction selectivity of neurons in V1 of alert monkeys: Functional relationships and laminar distributions. *Cerebral Cortex*, 15, 1207-1221.
- Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1962) Receptive Fields, Binocular Interaction and Functional Architecture in Cats Visual Cortex. *Journal of Physiology-London*, 160, 106-154.
- Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1968) Receptive Fields and Functional Architecture of Monkey Striate Cortex. *Journal of Physiology-London*, 195, 215-243
- Ikeda, H. & Wright, M. J. (1974) Sensitivity Of Neurones In Visual Cortex (area 17) under different levels of anesthesia. *Experimental Brain Research*, 20, 471.
- Itti, L., Koch, C. & Braun, J. (2000) Revisiting spatial vision: toward a unifying model. *Journal of the Optical Society of America A-Optics Image Science and Vision*, 17, 1899-1917.
- Iwaniuk, A.N. & Hurd, P.L. (2005) The evolution of cerebrotypes in birds. *Brain Behav.Evol.*, 65, 215-230.
- Iwaniuk, A.N. & Wylie, D.R. (2006) The evolution of stereopsis and the Wulst in caprimulgidiform birds: A comparative analysis. *J.Comp Physiol A Neuroethol.Sens.Neural Behav.Physiol*, 192, 1313-1326.
- Iwaniuk, A.N., Heesy, C.P., Hall, M.I. & Wylie, D.R.W. (2008) Relative Wulst volume is correlated with orbit orientation and binocular visual field in birds. *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 194, 267-282.
- Jin, J.Z., Weng, C., Yeh, C.I., Gordon, J.A., Ruthazer, E.S., Stryker, M.P., Swadlow, H.A. & Alonso, J.M. (2008) On and off domains of geniculate afferents in cat primary visual cortex. *Nature Neuroscience*, 11, 88-94.
- Jones, J.P. & Palmer, L.A. (1987) The Two-Dimensional Spatial Structure of Simple Receptive-Fields in Cat Striate Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 58, 1187-1211.
- Karten, H.J., Hodos, W., Nauta, W.J.H. & Revzin, A.M. (1973) Neural Connections of Visual-Wulst of Avian Telencephalon - Experimental Studies in Pigeon

(Columba-Livia) and Owl (Speotyto-Cunicularia). *Journal of Comparative Neurology*, 150, 253-277.

Kastner,S. & Ungerleider,L.G. (2000) Mechanisms of visual attention in the human cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 315-341.

Knudsen,E.I. (1982) Auditory and Visual Maps of Space in the Optic Tectum of the Owl. *Journal of Neuroscience*, 2, 1177-1194.

Lamme,V.A.F., Zipser,K. & Spekreijse,H. (1998) Figure-ground activity in primary visual cortex is suppressed by anesthesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 3263-3268.

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

Lewicki,M.S. (1998) A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network.*, 9, R53-R78.

Lima,B., Singer,W., Chen,N.H. & Neuenschwander,S. (2010) Synchronization Dynamics in Response to Plaid Stimuli in Monkey V1. *Cerebral Cortex*, 20, 1556-1573.

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

Livingstone,M. & Hubel,D. (1988) Segregation of Form, Color, Movement, and Depth - Anatomy, Physiology, and Perception. *Science*, 240, 740-749.

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

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

Medina,L. & Reiner,A. (2000) Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? *Trends in Neurosciences*, 23, 1-12.

Monier,C., Chavane,F., Baudot,P., Graham,L.J. & Fregnac,Y. (2003) Orientation and direction selectivity of synaptic inputs in visual cortical neurons: A diversity of combinations produces spike tuning. *Neuron*, 37, 663-680.

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

Nassi,J.J. & Callaway,E.M. (2009) Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 360-372.

- Nelson,S., Toth,L., Sheth,B. & Sur,M. (1994) Orientation Selectivity of Cortical-Neurons During Intracellular Blockade of Inhibition. *Science*, 265, 774-777.
- Nieder,A. & Wagner,H. (1999) Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. *Nature Neuroscience*, 2, 660-663.
- Nieder,A. & Wagner,H. (2000) Horizontal-disparity tuning of neurons in the visual forebrain of the behaving barn owl. *Journal of Neurophysiology*, 83, 2967-2979.
- Nieder,A. & Wagner,H. (2001) Encoding of both vertical and horizontal disparity in random-dot stereograms by Wulst neurons of awake barn owls. *Visual Neuroscience*, 18, 541-547.
- Nieder,A. & Wagner,H. (2001) Hierarchical processing of horizontal disparity information in the visual forebrain of behaving owls. *Journal of Neuroscience*, 21, 4514-4522.
- Nowak,L.G., Sanchez-Vives,M.V. & McCormick,D.A. (2008) Lack of orientation and direction selectivity in a subgroup of fast-spiking inhibitory interneurons: Cellular and synaptic mechanisms and comparison with other electrophysiological cell types. *Cerebral Cortex*, 18, 1058-1078.
- Nowak,L.G. & Barone,P. (2009) Contrast Adaptation Contributes to Contrast-Invariance of Orientation Tuning of Primate V1 Cells. *Plos One*, 4.
- Ohayon,S., Harmening,W., Wagner,H. & Rivlin,E. (2008) Through a barn owl's eyes: interactions between scene content and visual attention. *Biological Cybernetics*, 98, 115-132.
- Ohzawa,I., Sclar,G. & Freeman,R.D. (1982) Contrast Gain-Control in the Cat Visual-Cortex. *Nature*, 298, 266-268.
- Okamoto,M., Naito,T., Sadakane,O., Osaki,H. & Sato,H. (2009) Surround suppression sharpens orientation tuning in the cat primary visual cortex. *European Journal of Neuroscience*, 29, 1035-1046.
- Peterson,M.R., Li,B.W. & Freeman,R.D. (2006) Direction selectivity of neurons in the striate cortex increases as stimulus contrast is decreased. *Journal of Neurophysiology*, 95, 2705-2712.
- Pettigrew,J.D. & Daniels,J.D. (1973) Gamma-Aminobutyric Acid Antagonism in Visual-Cortex - Different Effects on Simple, Complex, and Hypercomplex Neurons. *Science*, 182, 81-83.
- Pettigrew,J.D. & Konishi,M. (1976) Neurons Selective for Orientation and Binocular Disparity in Visual Wulst of Barn Owl (Tyto-Alba). *Science*, 193, 675-678.
- Pettigrew,J.D. (1979) Binocular Visual Processing in the Owls Telencephalon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 204, 435-454.

- Pinto,L. & Baron,J. (2009) Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. *European Journal of Neuroscience*, 30, 1251-1268.
- Pinto,L. & Baron,J. (2010) Spatiotemporal Frequency Tuning Dynamics of Neurons in the Owl Visual Wulst. *Journal of Neurophysiology*, 103, 3424-3436.
- Priebe,N.J. & Ferster,D. (2008) Inhibition, spike threshold, and stimulus selectivity in primary visual cortex. *Neuron*, 57, 482-497.
- Reid,R.C. & Alonso,J.M. (1995) Specificity of Monosynaptic Connections from Thalamus to Visual-Cortex. *Nature*, 378, 281-284.
- Reynolds,J.H., Pasternak,T. & Desimone,R. (2000) Attention increases sensitivity of V4 neurons. *Neuron*, 26, 703-714.
- Reynolds,J.H. & Chelazzi,L. (2004) Attentional modulation of visual processing. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 611-647.
- Ringach,D.L., Hawken,M.J. & Shapley,R. (1997) Dynamics of orientation tuning in macaque primary visual cortex. *Nature*, 387, 281-284.
- Ringach,D.L., Shapley,R.M. & Hawken,M.J. (2002) Orientation selectivity in macaque V1: Diversity and Laminar dependence. *Journal of Neuroscience*, 22, 5639-5651.
- Ringach,D.L., Hawken,M.J. & Shapley,R. (2003) Dynamics of orientation tuning in macaque V1: The role of global and tuned suppression. *Journal of Neurophysiology*, 90, 342-352.
- Rose,D. & Blakemore,C (1974) Effects of Bicuculline on Functions of Inhibition in Visual-Cortex. *Nature*, 249, 375-377.
- Sato, H., Katsuyama, N., Tamura, H., Hata, Y., and Tsumoto, T. (1996) Mechanisms underlying orientation selectivity of neurons in the primary visual cortex of macaque. *Journal of Physiology*, 494, 757-771.
- Sclar,G. & Freeman,R.D. (1982) Orientation Selectivity in the Cats Striate Cortex Is Invariant with Stimulus Contrast. *Experimental Brain Research*, 46, 457-461.
- Shapley, R. M., Johnson, E. N., Hawken, M. J. Kang, K.. Orientation Selectivity and Stimulus Contrast in Macaque V1.(2002). Program Neuroscience Meeting Planner. Orlando, FL: Society for Neuroscience, 2002. Online.
- Shimizu T, & Karten HJ. The avian visual system and the evolution of the neocortex. (1993) In: Zeigler HP, Bischof HJ, editors.Vision, Brain, and Behavior in Birds. Cambridge (MA): MIT Press 103–114.
- Shimizu,T. & Bowers,A.N. (1999) Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behavioural Brain Research*, 98, 183-191.

- Sillito AM. (1975). The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat. *Journal of Physiology*. 250,305–29
- Skottun,B.C., Bradley,A., Sclar,G., Ohzawa,I. & Freeman,R.D. (1987) The Effects of Contrast on Visual Orientation and Spatial-Frequency Discrimination - A Comparison of Single Cells and Behavior. *Journal of Neurophysiology*, 57, 773-786.
- Skottun,B.C., Devalois,R.L., Grosof,D.H., Movshon,J.A., Albrecht,D.G. & Bonds,A.B. (1991) Classifying Simple and Complex Cells on the Basis of Response Modulation. *Vision Research*, 31, 1079-1086.
- Solomon,S.G., White,A.J.R. & Martin,P.R. (1999) Temporal contrast sensitivity in the lateral geniculate nucleus of a New World monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *Journal of Physiology-London*, 517, 907-917.
- Somers,D.C., Nelson,S.B. & Sur,M. (1995) An Emergent Model of Orientation Selectivity in Cat Visual Cortical Simple Cells. *Journal of Neuroscience*, 15, 5448-5465.
- Sompolinsky,H. & Shapley,R. (1997) New perspectives on the mechanisms for orientation selectivity. *Current Opinion in Neurobiology*, 7, 514-522.
- Steinbach.MJ, Angus,R.G. & Money,K.E. (1974) Torsional Eye-Movements of Owl. *Vision Research*, 14, 745-746.
- Swindale, N. V.; Grinvald, A.; Shmuel, A. (2003) The spatial pattern of response magnitude and selectivity for orientation and direction in cat visual cortex. *Cerebral Cortex*, v.13, n.3, p.225-238.
- Tadin,D., Lappin,J.S., Gilroy,L.A. & Blake,R. (2003) Perceptual consequences of centre-surround antagonism in visual motion processing. *Nature*, 424, 312-315.
- Tanaka,K. (1983) Cross-Correlation Analysis of Geniculostriate Neuronal Relationships in Cats. *Journal of Neurophysiology*, 49, 1303-1318.
- Tolhurst,D.J., Movshon,J.A. & Dean,A.F. (1983) The Statistical Reliability of Signals in Single Neurons in Cat and Monkey Visual-Cortex. *Vision Research*, 23, 775-785.
- Troyer,T.W., Krukowski,A.E., Priebe,N.J. & Miller,K.D. (1998) Contrast-invariant orientation tuning in cat visual cortex: Thalamocortical input tuning and correlation-based intracortical connectivity. *Journal of Neuroscience*, 18, 5908-5927.
- Troyer,T.W., Krukowski,A.E. & Miller,K.D. (2002) LGN input to simple cells and contrast-invariant orientation tuning: An analysis. *Journal of Neurophysiology*, 87, 2741-2752.

Turchetti-Maia, A & Baron, J (2010). Surround suppression in the owl visual wulst. Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2010. Online.

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

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

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

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

Vieira, P.G. Propriedades das respostas neuronais relacionadas ao processamento do contraste no wulst visual da coruja-buraqueira, *Athene cunicularia*. (2010). 97 f. Dissertação (mestrado) – Instituto de Ciências de Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

Villeneuve,M.Y. & Casanova,C. (2003) On the use of isoflurane versus halothane in the study of visual response properties of single cells in the primary visual cortex. *Journal of Neuroscience Methods*, 129, 19-31.

Vogels,R. & Orban,G.A. (1990) How Well do Response Changes of Striate Neurons Signal Differences in Orientation - A Study in the Discriminating Monkey. *Journal of Neuroscience*, 10, 3543-3558.

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

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

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

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

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