

João Paulo Machado de Sousa

*Título: Células simples e complexas no  
wulst visual da coruja*

Belo Horizonte - MG

Agosto de 2015

Universidade Federal de Minas Gerais  
Escola de Engenharia  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

***CÉLULAS SIMPLES E COMPLEXAS NO  
WULST VISUAL DA CORUJA***

João Paulo Machado de Sousa

Tese de doutorado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Elétrica.

Orientador:

Prof. Jerome Baron

Belo Horizonte - MG

Agosto de 2015



S725c

Sousa, João Paulo Machado de.

Células simples e complexas no wulst visual da coruja [manuscrito] / João Paulo Machado de Sousa. – 2015.

123 f., enc.: il.

Orientador: Jerome Baron.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais,  
Escola de Engenharia.

Bibliografia: f.113-123.

1. Engenharia elétrica -Teses. 2. Coruja - Teses. I. Baron, Jerome Paul Armand Laurent. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 621.3(043)

**“Células Simples e Complexas no Wulst Visual da Coruja”**

**João Paulo Machado de Sousa**

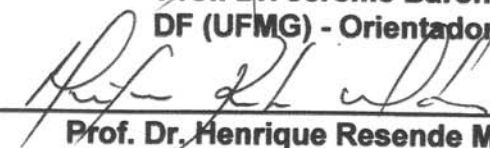
**Tese de Doutorado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Elétrica.**

**Aprovada em 07 de agosto de 2015.**


**Por:**



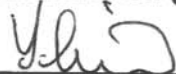
**Prof. Dr. Jerome Baron  
DF (UFMG) - Orientador**



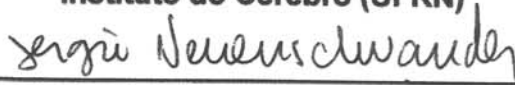
**Prof. Dr. Henrique Resende Martins  
PPGEE (UFMG)**



**Profa. Dra. Denise Duarte Scarpa Magalhaes Alves  
ICEx-Estatística (UFMG)**



**Profa. Dra. Kerstin Erika Schmidt  
Instituto do Cérebro (UFRN)**



**Prof. Dr. Sergio Neuenschwander  
Instituto do Cérebro (UFRN)**



**Prof. Dr. Christopher Kushmerick  
Fisiologia e Biofísica (UFMG)**

# *Agradecimentos*

Ao Universo que permitiu minha chegada até onde estou agora. A Tudo e a todos que me moldaram em quem eu sou.

À minha esposa Sâmara, pela paciência, companheirismo e por todo amor dedicados a mim nestes anos juntos. Obrigado por estar ao meu lado me fazendo feliz.

À meus pais que sempre incentivaram e apoiaram minha formação. Muito obrigado por terem me dado condições de seguir este caminho.

À toda minha família (meu irmão, tios, tias e primos) pela força e compreensão de minha ausência durante a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jerome Baron pelos ensinamentos passados e pela confiança no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Neurodinâmica pela boa convivência, incentivo e ajuda durante o doutorado. Agradeço em especial ao Pedro pela amizade e ajuda nos momentos de estresse.

Ao Prof. Dr. Yves Frégnac pela oportunidade de realizar o estágio sanduíche de um ano em seu laboratório trabalhando diretamente com sua equipe. Ao Prof. Dr. Marc Pananceau por toda atenção e aprendizado durante este período.

À todos aqueles que me acompanharam durante estes últimos anos me dando força e torcendo pela minha vitória.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais pela concessão de meu afastamento para esta capacitação e a CAPES pelo fomento durante o estágio sanduíche.

*“O saber é saber que nada se sabe. Esta é a definição do verdadeiro conhecimento.”*

Confúcio

# *Resumo*

O wulst visual é o alvo das projeções retinotalamofugais no telencéfalo de aves. Em corujas, esta área é conhecida por possuir semelhanças funcionais com o córtex visual primário (V1) de mamíferos. Em seu estudo pioneiro, Pettigrew (1979) relatou que tais semelhanças também se estendem a dois tipos celulares básicos que inicialmente foram descritos por Hubel e Wiesel (em V1): células simples, caracterizadas por sua seletividade espacial aproximadamente linear à polaridade do contraste do estímulo, e uma população muito mais diversificada de células denominadas complexas, as quais não exibem essa propriedade de resposta. Neste trabalho, os achados de Pettigrew foram reavaliados usando métodos de classificação mais quantitativos oriundos da teoria de sistemas lineares. O método calcula o índice de linearidade do somatório espacial baseado na resposta dos disparos da célula a uma grade senoidal em movimento. Os estímulos utilizados foram otimizados em termos de frequências espaciais e temporais, orientação, tamanho e direção do movimento, dependendo do protocolo de registro. A linearidade da somação espacial ou modulação da resposta evocada ( $F_1/F_0$ ) é obtida por meio da divisão da amplitude da oscilação da resposta na frequência temporal do estímulo ( $F_1$ ) pela média da resposta acima da atividade espontânea ( $F_0$ ). Células que possuem  $F_1/F_0 > 1$  são classificadas como simples; as outras como complexas. A confiabilidade neste método de classificação se baseia em duas linhas de evidências: 1) concordância geral com outros métodos de mapeamento; 2) distribuição bimodal de  $F_1/F_0$  com um vale bem definido entre os neurônios de V1 na maioria das espécies de mamíferos estudadas até hoje. Foi analisado um total de 369 neurônios, amostrados aleatoriamente ao longo de diferentes profundidades no wulst visual de dezesseis corujas buraqueiras acordadas. Os resultados obtidos até o momento mostram que a distribuição da linearidade da somação espacial ( $F_1/F_0$ ) foi unimodal (mediana  $F_1/F_0 = 0,43$ ) sem evidência clara de um mínimo local ( $P=0,997$  teste dip de Hartigan). Adotando o critério de classificação convencionalmente utilizado em mamíferos (descrito acima), 83% das células amostradas foram classificadas como complexas (mediana  $F_1/F_0 = 0,36$ ). A proporção de células simples (mediana  $F_1/F_0 = 1,33$ ) foi apenas ligeiramente menor que o relatado por Pettigrew em corujas *Tyto alba* anestesiadas (21%, 126/579). Os neurônios classificados como simples e complexos ap-



resentaram valores medianos de atividade espontânea similares (3,43 e 4,24 disparos/s, respectivamente) e a linearidade da somação espacial da resposta evocada não mostrou correlação estatisticamente significativa com a atividade espontânea. Conforme nossos dados, foi encontrada uma grande variação na modulação das respostas evocadas para baixo e alto contrastes, 7,5% e 98% respectivamente. Algumas células do wulst visual (aproximadamente 1/4 das células avaliadas,  $n = 120$ ) apresentaram classificações variadas para diferentes contrastes. De acordo com um trabalho anterior de nosso grupo, os neurônios do wulst visual (86/111) apresentam uma supressão da resposta quando uma grade senoidal em movimento é expandida além do seu campo receptivo clássico (CRF). Aqui, mostramos que este efeito é muitas vezes acompanhado por um aumento de  $F_1/F_0$  (aproximadamente 2/3 das células avaliadas,  $n = 86$ ). Metodologias de mapeamento 2D das subunidades do campo receptivo dos neurônios utilizando a correlação reversa foram desenvolvidas e aplicadas com o objetivo de caracterizar suas estruturas internas. Os mapeamentos 2D das subunidades dos campos receptivos mostraram que a localização espacial das subunidades *ON* e *OFF* podem se alterar ao longo do tempo ou se configurar de forma diferente dependendo do estímulo utilizado em sua estimulação. Os campos receptivos se mostraram mais “complexos” quando estimulados com um ruído esparsos e mais “simples” quando estimulados com um ruído denso. Portanto, de modo geral, nossos resultados não apoiam a existência de duas classes distintas de células simples/complexas no wulst visual. Os resultados sugerem ainda que o grau com que cada neurônio do wulst visual atua como um filtro espaço temporal linear depende da combinação específica dos atributos do estímulo.

# *Abstract*

The visual wulst is the avian telencephalic target of the retinorecipient pathway. In owls, this area is known to have a close functional resemblance with mammalian primary visual cortex (V1). In his pioneering study, Pettigrew reports that this resemblance also extends to two basic cell types initially described by Hubel and Wiesel: simple cells, characterized by approximately linear spatial selectivity to stimulus contrast polarity, and a much more diverse population of so-called complex cells, which do not exhibit this response property. Here, we reassess Pettigrew's finding using a more quantitative classification method derived from linear system theory. The method computes a linearity index of spatial summation based on the spiking response of a cell to moving sinusoidal gratings optimized in terms of spatial as well as temporal frequencies, orientation and direction of motion. The index ( $F_1/F_0$ ) is obtained by dividing the amplitude of response oscillation at the fundamental frequency of the stimulus ( $F_1$ ) by the mean response of the cell above spontaneous discharge ( $F_0$ ). Cells yielding a  $F_1/F_0 > 1$  are classified as simple cells; the others as complex cells. The reliability of this classification method is supported by two lines of evidence: 1) general agreement with other mapping methods; 2) Bimodal distribution of  $F_1/F_0$  with a pronounced dip close to unity across V1 neurons of most mammalian species investigated to date. We analyzed a total of 369 neurons randomly sampled along different depths of the visual wulst of sixteen awake burrowing owls. Unexpectedly, the  $F_1/F_0$  frequency distribution was found to be unimodal (median  $F_1/F_0 = 0.43$ ) with no clear evidence of local minimum at unity ( $P = 0.997$ , Hartigan's dip test). Adopting the classification criterion conventionally used in mammals (see above), 83% of our sampled cells were classified as complex (median  $F_1/F_0 = 0.36$ ). The proportion of simple cells (median  $F_1/F_0 = 1.33$ ) was however only slightly lower than that reported by Pettigrew in anesthetized barn owls (21%, 126/579). Neurons classified as simple and complex had similar median spontaneous rates (3.43 and 4.24, respectively) and  $F_1/F_0$  was not significantly correlated with spontaneous activity. According to our data, it was found a considerable variability of  $F_1/F_0$  for low and high contrast, 7.5% and 98%, respectively. Some wulst's cells (about 1/4 of evaluated cells,  $n = 120$ ) showed different classification for both contrasts. Most wulst's neurons exhibit marked response suppres-

sion when a drifting grating is expanded beyond their classical receptive field (CRF). Here, we found that this suppressive effect is actually often accompanied by a significant increase in  $F_1/F_0$  (about 2/3 of evaluated cells,  $n = 86$ ). Receptive field subunits 2D mapping methodologies were developed and applied using the reverse correlation in order to characterize its internal structures. The receptive field subunits 2D maps showed a dynamic behavior in the spatial localization of receptive field subunits ON and OFF during time and a receptive field reconfigurability depending on the stimulus statistics. The receptive field was more "complex"like when stimulated by a sparse noise and more "simple"like when stimulated by a dense noise. Altogether, our results do not support the existence of two discrete simple/complex cell classes within the visual wulst. They further suggest that the degree with which a wulst neuron operates as a spatiotemporal linear filter depends on specific combinations of stimulus attributes.

# *Sumário*

.....  
**Resumo** . . . . .

**Abstract** . . . . .

## **Lista de Figuras**

## **Lista de Tabelas**

**Lista de Abreviaturas** . . . . . p. 23

**1 Introdução** . . . . . p. 24

1.1 O processamento visual . . . . . p. 24

1.2 Células simples e complexas em V1 . . . . . p. 25

1.2.1 A descoberta dos campos receptivos . . . . . p. 25

1.2.2 Métodos de classificação . . . . . p. 26

1.2.3 Topologias de circuitos subjacentes à construção de CR simples e complexos . . . . . p. 28

1.2.3.1 Modelo hierárquico . . . . . p. 28

1.2.3.2 Modelo paralelo . . . . . p. 30

1.2.3.3 Modelo recorrente . . . . . p. 31

1.2.3.4 Modelo híbrido . . . . . p. 33

1.3 Importância funcional das células simples e complexas . . . . . p. 34

1.4 Caracterização 2D dos campos receptivos . . . . . p. 35

1.5 Evidências de campos receptivos dinâmicos . . . . . p. 40

1.6	O wulst visual da coruja: um sistema interessante para uma abordagem comparativa . . . . .	p. 42
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	p. 45
2.1	Objetivo principal . . . . .	p. 45
2.2	Objetivos específicos . . . . .	p. 45
<b>3</b>	<b>Materiais e Métodos</b>	p. 46
3.1	Manutenção dos animais . . . . .	p. 46
3.1.1	Preparo dos animais . . . . .	p. 46
3.1.2	Procedimento cirúrgico . . . . .	p. 47
3.2	Registro eletrofisiológico extracelular . . . . .	p. 48
3.2.1	Dispositivo multieletrodo . . . . .	p. 48
3.2.2	Registro dos sinais neuronais . . . . .	p. 49
3.3	Estimulação visual . . . . .	p. 50
3.3.1	Identificação inicial dos campos receptivos . . . . .	p. 51
3.3.2	Estímulos visuais para avaliação quantitativa das células . . . . .	p. 51
3.3.2.1	Protocolo P1 - Variação das frequências espacial e temporal . . . . .	p. 52
3.3.2.2	Protocolo P2 - Variação do contraste . . . . .	p. 53
3.3.2.3	Protocolo P3A - Variação do tamanho . . . . .	p. 54
3.3.2.4	Protocolo P3B - Variação do tamanho e contraste . . . . .	p. 54
3.3.2.5	Protocolo P4 - Variação da direção . . . . .	p. 55
3.4	Análise dos dados . . . . .	p. 55
3.4.1	Separação dos potenciais de ação ( <i>spike sorting</i> ) . . . . .	p. 55
3.4.2	Classificação das células em simples ou complexas . . . . .	p. 56
3.4.3	A técnica de Bootstrap . . . . .	p. 57
3.5	Teste F Espectral . . . . .	p. 58

3.6	Métricas para o mapeamento 2D dos campos receptivos . . . . .	p. 59
3.6.1	Estimulação visual no mapeamento dos campos receptivos . . . . .	p. 59
3.6.2	Construção dos mapas . . . . .	p. 61
3.6.3	Métricas de quantificação da sobreposição espacial entre as sub- unidades do campo receptivo . . . . .	p. 62
<b>4</b>	<b>Distribuição da linearidade da somação espacial no wulst visual da coruja buraqueira</b>	p. 65
4.1	Introdução . . . . .	p. 65
4.2	Resultados . . . . .	p. 66
4.2.1	Verificação da utilização do Bootstrap . . . . .	p. 66
4.2.2	Caracterização da linearidade da somação espacial da resposta . . . . .	p. 68
4.2.3	Distribuição da linearidade da somação espacial . . . . .	p. 70
4.2.4	Relação entre $F_0$ e $F_1/F_0$ . . . . .	p. 73
4.2.5	A atividade espontânea e linearidade da resposta . . . . .	p. 74
<b>5</b>	<b>Comportamento da linearidade da somação espacial frente à variações de tamanho e contraste do estímulo</b>	p. 77
5.1	Introdução . . . . .	p. 77
5.2	Resultados . . . . .	p. 78
5.2.1	Relação entre o tamanho do estímulo e a linearidade da resposta . . . . .	p. 78
5.2.2	Relação entre o contraste do estímulo e a linearidade da somação espacial . . . . .	p. 83
5.2.3	Efeitos da baixa atividade na linearidade da somação espacial para células complexas insensíveis à fase do estímulo . . . . .	p. 87
<b>6</b>	<b>Mapeamento 2D dos campos receptivos</b>	p. 92
6.1	Introdução . . . . .	p. 92
6.2	Resultados . . . . .	p. 92

6.2.1	Análise da relação espacial entre as subunidades <i>ON</i> e <i>OFF</i> . . .	p. 93
6.2.2	Análise do tempo de atraso ( $\tau$ ) ótimo . . . . .	p. 95
6.2.3	Análise da dominância à estimulação visual usando o ruído esparso	p. 97
6.2.4	Campos receptivos dinâmicos ou invariantes? . . . . .	p. 98
<b>7</b>	<b>Discussão geral</b>	p. 103
7.1	Resumo dos resultados encontrados . . . . .	p. 103
7.2	Células simples e complexas . . . . .	p. 104
7.3	Distribuição de $F_1/F_0$ . . . . .	p. 106
7.4	O teste F espectral . . . . .	p. 108
7.5	Dependência entre $F_1/F_0$ e as propriedades do estímulo . . . . .	p. 109
7.6	Campos receptivos dinâmicos . . . . .	p. 110
7.7	Relação entre $F_1/F_0$ e as estruturas do campo receptivo . . . . .	p. 110
7.8	Relevância funcional . . . . .	p. 111
<b>8</b>	<b>Perspectivas de trabalhos futuros</b>	p. 113
	<b>Referências</b>	p. 114

# *Lista de Figuras*

1	Representação esquemática da organização espacial dos campos receptivos de uma célula simples. As sub-regiões excitatórias estão representadas por $x$ e as sub-regiões inibitórias por $\Delta$ . Figura original de (HUBEL; WIESEL, 1962) . . . . .	p. 26
2	Representação esquemática da classificação das células em simples e complexas. . . . .	p. 27
3	Modelo Hierárquico. Células simples projetam-se para camadas superiores gerando campos receptivos de células complexas. . . . .	p. 29
4	Modelo Paralelo. Células simples e complexas recebem projeções tálamo-corticais. . . . .	p. 30
5	Dois exemplos para o modelo recorrente. Células simples e complexas são configuradas dependendo da força de suas conexões recorrentes. O modelo proposto em A enfatiza os diferentes ganhos ou amplificações nas conexões excitatórias em camadas superiores (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999), enquanto que no modelo proposto em B as conexões recorrentes poderiam ser somente excitatórias (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999) ou excitatórias e inibitórias (DEBANNE; SHULZ; FREGNAC, 1998).	p. 32
6	Configurações de células do NGL para ativação de respostas <i>off</i> . . . . .	p. 32
7	Modelo Híbrido. A definição de células simples e complexas abrange as ideias atuais dos modelos hierárquicos, paralelo e recorrente. . . . .	p. 33
8	Representação de um sistema linear e invariante no tempo. $X$ e $Y$ representam a estrutura espacial do campo receptivo no instante $t$ . . . . .	p. 36
9	Exemplos de mapeamento por correlação reversa de células simples da área 17 de gatos medidos por Jones e Palmer. As bordas sólidas representam áreas excitatórias e as tracejadas áreas inibitórias. Figura original de (JONES; PALMER, 1987). . . . .	p. 37



10	Método de construção de perfis de campo receptivo espaço-temporais para células simples. Figura original de (DEANGELIS; OHZAWA; FREEMAN, 1993a) . . . . .	p. 38
11	Decomposição das subunidades <i>ON</i> e <i>OFF</i> utilizando como estímulos ruídos esparso (SN) e denso (DN). As subunidades foram mapeadas à partir dos sinais do potencial de membrana ( $V_m$ ) e potenciais de ação ( $Spk$ ). A escala de cor indica os valores referentes à normalização utilizando z-score. Figura original de (FOURNIER, 2009). . . . .	p. 41
12	Representação esquemática do dispositivo multieletrodo baseado nos micromanipuladores hidráulicos e uma mesa X-Y para controle de coordenadas (partes do kit MO-95, Narishige, Japão). Projetado pelo Dr. Sérgio Neuenschwander no Instituto <i>Max-Planck for Brain Research</i> , Frankfurt, 2005. Representação esquemática realizada por Heitor de Oliveira, Instituto do Cérebro - UFRN, Natal. Cortesia do Dr. Sérgio Neuenschwander. . . . .	p. 48
13	Visão geral do setup experimental. Os dispositivos utilizados para aquisição de dados são sincronizados via sinal TTL. A interconexão entre computadores é feito por meio de uma rede local. . . . .	p. 50
14	Representação esquemática da técnica de Bootstrap. . . . .	p. 57
15	Ruídos bidimensionais utilizados como estímulos visuais no mapeamento das subunidades dos campos receptivos. . . . .	p. 60
16	Correlações entre os diversos números de repetições e o número máximo de repetições. A linha tracejada indica uma correlação de 75%. . . . .	p. 62
17	Correlação entre os valores médios da linearidade da somação espacial. A linha contínua corresponde a $x=y$ , e as linhas tracejadas representam os limiares entre as classificações na modulação da resposta; rho, coeficiente de correlação para o teste de Spearman, $n=369$ . . . . .	p. 67
18	Organização em ordem decrescente dos índices de modulação calculados pelo Bootstrap e seus respectivos intervalos de confiança. A linha horizontal em $F_1/F_0 = 1$ indica o limiar de classificação entre as células simples e complexas. . . . .	p. 67

- 19 Exemplos representativos de uma célula simples (A-C) e duas células complexa (D-F e G-I). À esquerda de cada exemplo (A, D e G) encontram os respectivos gráficos polares com as preferências direcionais de cada célula. A cima de cada HTPE encontram-se seus respectivos *raster plot*. Os estímulos foram apresentados um segundo após o início dos registros e tiveram a duração de quatro segundos como pode ser visto pela representação esquemática da frequência temporal do estímulo a cima de cada *raster plot*. A linha cinza nos HTPE representa as respectivas atividades espontâneas. As células foram estimuladas com uma grade senoidal com frequência temporal de 2 Hz. Nas Transformadas de Fourier de cada HTPE (C, F e I) estão indicados os pontos  $F_0$  e  $F_1$  juntamente com os respectivos valores do índice de modulação, frequência espacial (FE), frequência temporal (FT) e Teste F espectral. . . . . p. 69
- 20 Histograma da distribuição do índice de modulação ( $n = 369$ ). A gaussiana em linha pontilhada é o ajuste da distribuição do grupo de células complexas que possuem uma componente fásica estatisticamente significativa e a gaussiana em linha contínua é o ajuste do grupo células complexas que não possuem sensibilidade fásica ao estímulo. . . . . p. 71
- 21 Histograma das distribuições das modulações das respostas calculado pelo método clássico (A) e pelo método de DeValois (B). As gaussianas em linha pontilhada são os ajustes das distribuições dos grupos de células complexas que possuem uma componente fásica estatisticamente significativa e as gaussianas em linha contínua são os ajustes dos grupos de células complexas que não possuem sensibilidade fásica ao estímulo. . . p. 72
- 22 Relação entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$ . As marcações em preto, cinza e branco são as representações para o grupo de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. A linha preta é o ajuste linear entre as variáveis  $F_0$  e  $F_1/F_0$ . . . . . p. 74

- 23 Relação entre a atividade espontânea e  $F_1/F_0$ . Em A é apresentada as distribuições das atividades espontâneas para cada grupo celular de nossa amostra. As barras indicam suas respectivas medianas, 25° e 75° percentis. Em B, C e D são mostradas as relações entre a atividade espontânea e o índice de linearidade da somação espacial para os grupos de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. As linhas em B-D são os ajustes lineares entre as variáveis e os valores de *rho* e *p* referem-se às correlações realizadas. . . . . p. 75
- 24 Relação entre a atividade espontânea e  $F_0$ . Em A, B e C são mostradas as relações entre a atividade espontânea e  $F_0$  para os grupos de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. As linhas em A B e C são os ajustes lineares entre as variáveis e os valores de *rho* e *p* referem-se às correlações realizadas. . . . . p. 76
- 25 Representação esquemática dos tamanhos de estímulo no CRC e CREC. p. 79
- 26 Evolução da resposta evocada para diferentes tamanhos de estímulo. Em A é mostrado os HTPE de quatro células, uma simples (a), uma complexa<sup>F1</sup> (b) e duas complexas (c e d), para três tamanhos de estímulo: CRC (I), CREC (II) e tamanho máximo (III). A linha cinza em cada HTPE indica a atividade espontânea das células e abaixo de cada HTPE é apresentada a representação esquemática da frequência temporal do estímulo. Em B, ao lado de cada evolução das respostas, é mostrado um gráfico indicando os valores de  $F_1$  e  $F_0$  para todos os tamanhos utilizados. p. 80
- 27 Efeitos do tamanho do estímulo nos índices de modulação. Em A é mostrado o gráfico de dispersão mostrando a comparação entre  $F_1/F_0$  nas condições CRC (alta atividade) e CREC (baixa atividade). Em B é mostrado o gráfico de dispersão para os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$ , calculados pela razão entre cada componente obtida na condição CREC e seu respectivo valor na condição CRC. Os círculos brancos, cinzas e pretos indicam as células classificadas como simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas correspondem à linha  $x=y$ , e as linhas pontilhadas indicam o limiar entre a classificação de simples e complexa em A e o ganho unitário de  $F_1$  e  $F_0$  em B. Em C e D são mostradas as distribuições de  $F_1/F_0$  obtidas para o tamanho do estímulo no CRC e CREC, respectivamente. . . . . p. 82

- 28 Funções de resposta ao contraste. Na figura é apresentada a alta heterogeneidade das funções de resposta ao contraste. Cada curva em cinza representa o melhor modelo ajustado e normalizado para cada célula isolada nesse estudo. A curva em preto representa a curva média das respostas,  $n = 119$ . Figura original de (VIEIRA; SOUSA; BARON, 2015) . p. 84
- 29 Efeitos da variação do contraste do estímulo na linearidade da somação espacial. Em A é mostrado o gráfico de dispersão mostrando a comparação entre  $F_1/F_0$  nas condições de contraste máximo (alta atividade) e limiar de contraste (baixa atividade). Em B é mostrado o gráfico de dispersão para os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$ , calculados pela razão entre cada componente obtida na condição de limiar de contraste e seu respectivo valor na condição de contraste máximo. Os círculos brancos, cinzas e pretos indicam as células classificadas como simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas correspondem à linha  $x=y$ , e as linhas pontilhadas indicam o limiar entre a classificação de simples e complexa em A e o ganho unitário de  $F_1$  e  $F_0$  em B. Em C e D são mostradas as distribuições de  $F_1/F_0$  obtidas para o contraste máximo e no limiar de contraste do estímulo, respectivamente. . . . . p. 85
- 30 Efeitos da baixa atividade previstos por um modelo de célula complexa invariante à fase do estímulo. Em A é mostrada a distribuição das linearidades da somação espacial à partir de  $10^5$  repetições para uma contagem de 4 disparos. Em B é apresentado as estimativas das linearidade da somação espacial em função da taxa de disparo. Em C é apresentada a taxa de detecção para a componente fásica  $F_1$  para cada distribuição das contagens de disparo usando o Teste F Espectral. Os gráficos em A, B e C apresentam os resultados para o modelo proposto por Hietanen e colaboradores (2013). Em D, E e F são apresentadas as mesmas informações de A, B e C, entretanto utilizando o modelo modificado. Em A e D as medianas das distribuições são indicadas por uma seta branca. Em B e E, as linhas verticais indicam a posição da distribuição obtidas respectivamente em A e D e as linhas contínuas em preto indicam as tendências centrais com suas respectivas dispersões nas áreas sombreadas em cinza (intervalo de confiança de 95%). . . . . p. 88

- 31 Comparação entre os valores  $F_1/F_0$  derivados do modelo modificado e os valores obtidos dos dados experimentais sob diferentes atividades neuronais. Em A e B são apresentadas as comparações dos valores de  $F_1/F_0$  do modelo com os valores experimentais a baixa (CREC) e alta (CRC) atividade na variação do tamanho, respectivamente. Em C e D o mesmo que A e B mas para o limiar de contraste e contraste máximo, respectivamente. Em todos os gráficos, os pontos brancos, cinzas e pretos indicam as células simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas em preto indicam as tendências centrais do modelo modificado com suas respectivas dispersões nas áreas sombreadas em cinza (intervalo de confiança de 95%). . . . . p. 90
- 32 Mapas *ON* e *OFF* obtidos pela correlação reversa utilizando um ruído esparsos como estímulo. Como indicado pelo mapa de cor (parte inferior da figura), as regiões em vermelho mostram áreas onde os estímulos induziram um aumento na atividade neuronal acima da atividade espontânea e as regiões em azul mostram áreas onde ocorreu uma supressão da atividade abaixo da atividade espontânea. Ao lado dos mapas *ON* e *OFF* encontram-se os respectivos cortes utilizados para os cálculos das métricas  $\beta$  e  $\lambda$ . As linhas vermelhas indicam os cortes nos mapas *ON* e as linhas azuis os cortes nos mapas *OFF*. Ao lado das linhas de corte encontram-se os valores encontrados para as quatro métricas de quantificação da sobreposição espacial. . . . . p. 93
- 33 Relação entre as métricas de cálculo dos índices de sobreposição e a taxa de modulação. Gráficos de dispersão entre todas as combinações de  $\alpha$ ,  $\rho$ ,  $\beta$ ,  $\lambda$  e  $F_1/F_0$ . As linhas vermelhas indicam um ajuste linear entre as métricas correlacionadas. Os coeficientes de correlação e os valores de  $p$  são mostrados dentro de cada gráfico. . . . . p. 95
- 34 Distribuição dos atrasos de tempo para os mapas de campo receptivo. A seta em branco indica a mediana da distribuição. . . . . p. 96
- 35 Distribuição dos atrasos de tempo para os mapas de campo receptivo separados por grupos. A e B correspondem às distribuições dos  $\tau_{otimo}$  para o grupo *ON* e *OFF*, respectivamente. As setas em branco indicam as medianas das distribuições. . . . . p. 97

- 36 Comparação do número de ocorrências para os grupos *ON* e *OFF* quanto à preferência visual. Em A a preferência ao estímulo visual era definida pela subunidade que apresentasse maior atividade separadamente. Em B essa preferência foi definida para a subunidade que apresentasse maior atividade global ao longo do tempo. . . . . p. 98
- 37 Evolução temporal das estruturas dos campos receptivos. Em A é mostrado a evolução temporal das subunidades *ON*, *OFF* e *ON-OFF* para todos os atrasos de tempo ( $\tau$ ). Em B e C são mostrados os mapas das subunidades *ON* e *OFF* para os atrasos de tempo de 50 ms ( $\tau_{ref}$ ) e 110 ms, respectivamente. Ao lado dos mapas estão os respectivos cortes utilizados para os cálculos da métricas  $\beta$  e  $\lambda$ , e os valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial. As linhas vermelhas indicam o corte nos mapas *ON* e as linhas azuis o corte nos mapas *OFF*, os cortes passam pelos pontos de máxima atividade dentro das subunidades. A parte inferior da figura indica o mapa de cor para excitação e supressão da atividade neuronal. . . . . p. 99
- 38 Verificação da variação da organização espacial à partir da estimulação visual por ruído esparso e denso. Ao lado dos mapas estão os respectivos cortes utilizados para os cálculos da métricas  $\beta$  e  $\lambda$ , e os valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial. As linhas vermelhas indicam o corte nos mapas *ON* e as linhas azuis o corte nos mapas *OFF*, os cortes passam pelos pontos de máxima atividade dentro das subunidades estimuladas pelos ruídos esparso e denso. A parte inferior da figura indica o mapa de cor para excitação e supressão da atividade neuronal. . . . . p. 101
- 39 Organização das camadas do wulst visual da coruja. A histologia apresentada (corte coronal no cérebro da coruja) foi corada pelo método de Gallyas (cortesia de Jerome Baron) e a representação esquemática das camadas corada pelo método de Nissl (adaptado de (PETTIGREW, 1979)). p. 105
- 40 Simulação das distribuições de  $F_1/F_0$  para diferentes proporções de células. Em A e B as células classificadas como simples e complexas possuem médias de 1,5 e 0,5, respectivamente e desvio padrão de 0,25. Em A a proporção entre os tipos celulares é de 20% e 80% e em B de 30% e 70%. p. 107

# *Lista de Tabelas*

- 1 Número de registros utilizados em cada protocolo de estímulo . . . . . p. 52
- 2 Variação da componente fásica estatisticamente significativa (Tamanho) p. 83
- 3 Variação da componente fásica estatisticamente significativa (Contraste) p. 87
- 4 Quantificação das células fora do intervalo de confiança de 95% do modelo p. 91

## *Lista de Abreviaturas*

CR	Campo Receptivo
CRC	Campo Receptivo Clássico
CREC	Campo Receptivo Extra Clássico
$F_1/F_0$	Linearidade da somação espacial ou modulação da resposta
$F_0$	Atividade média
$F_1$	Componente fásica ou magnitude da primeira harmônica da FFT
FE	Frequência Espacial
FEF	<i>Frontal Eye Fields</i>
FFT	Transformada rápida de Fourier
FT	Frequência Temporal
HTPE	Histogramas de Tempo Peri-Estímulo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
LFP	Potenciais de Campo Local
MUA	Atividade de Unidades Múltiplas
NGL	Núcleo Geniculado Lateral
TFE	Teste F Espectral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gérias
V1	Córtex Visual Primário
$V_m$	Potencial de membrana
$V_{rest}$	Potencial de membrana no repouso



# 1 *Introdução*

## 1.1 O processamento visual

Os neurônios sensoriais são responsáveis pela codificação dos diversos estímulos ambientais. Dentre as modalidades sensoriais, a visão é, provavelmente, a mais importante para a maioria dos vertebrados. O sistema visual inicialmente deve detectar e discriminar uma série de atributos como, por exemplo, cores, profundidade, forma e movimento. Em seguida, a partir de integrações ao longo de vias visuais, extrair informações de frequências espaço-temporais, contraste cromático e acromático, direção do movimento e orientação de contornos (NASSI; CALLAWAY, 2009). Tais informações permitem a construção de representações pertinentes do mundo, fornecendo, por exemplo, noções de profundidade (ICHIHARA; KITAGAWA; AKUTSU, 2007) e velocidade (PRIEBE; LISBERGER; MOVSHON, 2006; PRIEBE; CASSANELLO; LISBERGER, 2003; SNOWDEN; STIMPSON; RUDDLE, 1998).

Em mamíferos, o processamento visual é realizado principalmente pela via talamo-fugal, tendo início na retina por meio da transdução neural da energia luminosa pelos fotoreceptores. Os sinais provenientes da transdução se propagam por vários tipos celulares até atingir as células ganglionares, as quais formam a via de saída da retina. Parte das aferências dessas células transmite a informação para o núcleo geniculado lateral (NGL) que, por sua vez, a transmite para o córtex visual primário (V1). A partir de V1 são enviadas diversas projeções para outras áreas corticais relacionadas à visão, como por exemplo, para as áreas extra-estriatais como V2, V3 e Área Temporal Medial (NASSI; CALLAWAY, 2009; LIVINGSTONE; HUBEL, 1988). Os neurônios de V1 apresentam propriedades de respostas para certos atributos visuais que não são encontradas na retina ou no NGL, sugerindo que parte da codificação dos atributos visuais resulta da integração específica das células de V1 em relação às projeções dos neurônios do NGL.

## 1.2 Células simples e complexas em V1

### 1.2.1 A descoberta dos campos receptivos

O campo receptivo (CR) de um neurônio sensorial é definido por uma área que, quando estimulada, produz alteração na frequência de disparo de potenciais de ação deste neurônio (HARTLINE, 1938). Stephen Kuffler, pesquisador pioneiro na área de neurociência da visão reforçou o conceito de campo receptivo em células ganglionares da retina de mamíferos. Esse pesquisador iniciou seus trabalhos em 1939 no laboratório de Bernard Katz, passando pelo Wilmer Institute of Ophthalmology na Johns Hopkins University Medical School e posteriormente em Harvard fundando o departamento de neurobiologia em 1966. A partir dos seus estudos, novos aspectos da organização funcional da retina foram caracterizados. Dessa forma, mostrou-se que os campos receptivos das células ganglionares possuíam subdivisões concêntricas formadas por uma região central e outra periférica que respondiam de forma antagônica à estimulação (centro *ON* e contorno *OFF* ou vice-versa) (KUFFLER, 1953). Dando continuidade aos trabalhos de Kuffler, seus alunos de doutorado, David Hubel e Torsten Wiesel, foram os primeiros pesquisadores a caracterizarem o campo receptivo no córtex visual primário de mamíferos (HUBEL; WIESEL, 1959), sendo agraciados com o prêmio Nobel em 1981 por essa e outras contribuições. Com o objetivo de compreender melhor o comportamento de células individuais, Hubel e Wiesel (1962) descreveram a existência de um alto grau de complexidade nas propriedades de resposta celular no início da via cortical do sistema visual revelando diferentes tipos celulares e suas interconexões. Tais descobertas geraram a classificação funcional das células de V1 em dois grandes grupos: células simples e células complexas. De acordo com essa classificação, as células simples possuem um CR espacialmente separado em regiões distintas de excitação (*ON*) e inibição (*OFF*); apresentam somação dentro das regiões de excitação e inibição; quando estimulado por feixes de luz mais luminosos que o fundo apresentam antagonismo entre as sub-regiões excitatórias e inibitórias; e a partir do conhecimento da organização da subunidade do campo receptivo predizem as propriedades das respostas a estímulos de diferentes formatos, estacionários ou em movimento (HUBEL; WIESEL, 1962). As células complexas eram classificadas por exclusão.

A figura 1 mostra o modelo proposto inicialmente por Hubel e Wiesel (1962) para uma possível representação esquemática da organização espacial de campos receptivos que fazem projeções excitatórias para uma célula simples.

A partir dessa representação é possível perceber o alinhamento paralelo entre os cam-

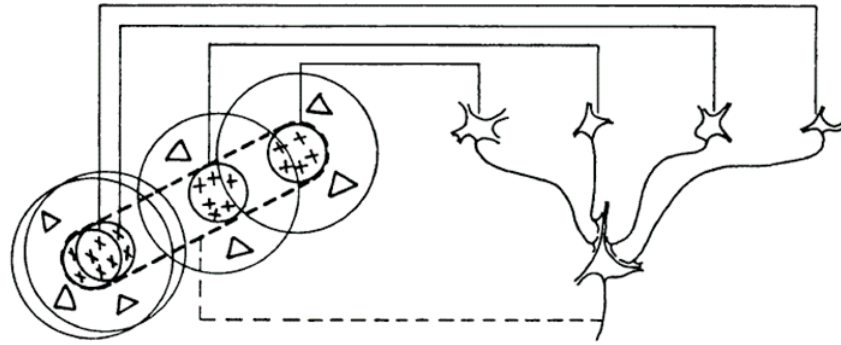


Figura 1: Representação esquemática da organização espacial dos campos receptivos de uma célula simples. As sub-regiões excitatórias estão representadas por  $x$  e as sub-regiões inibitórias por  $\Delta$ . Figura original de (HUBEL; WIESEL, 1962)

pos receptivos (linha pontilhada) formando uma orientação preferida. Estimulando os campos receptivos, por exemplo, com uma barra luminosa nessa orientação preferida, as células que recebem essas aferências terão suas atividades médias aumentadas e consequentemente eram classificadas como simples.

### 1.2.2 Métodos de classificação

Inicialmente a classificação dos neurônios em simples ou complexos era realizada de forma qualitativa (HUBEL; WIESEL, 1962; PETTIGREW; NIKARA; BISHOP, 1968; MOVSHON; THOMPSON; TOLHURST, 1978). Barras luminosas eram utilizadas para a estimulação visual e as subunidades *ON* e *OFF* dos campos receptivos estimadas, respectivamente, à partir do aumento ou decréscimo da atividade neuronal quando o estímulo sobrepunha suas localizações espaciais. Tal método era impreciso e subjetivo (dependente da interpretação do experimentador). Tentando contornar essa subjetividade, Skottun e colaboradores (1991) propuseram uma metodologia de classificação quantitativa baseada na análise de sistemas lineares. Nessa metodologia as células eram classificadas em simples ou complexas de acordo com a linearidade de suas respostas quando grades senoidais eram utilizadas como estímulos.

A análise de sistemas lineares vem sendo aplicada na engenharia a mais de um século e meio, contudo sua aplicação bem sucedida no estudo do processamento visual só teve início nos anos 70 (MAFFEI; FIORENTINI, 1973; MOVSHON; THOMPSON; TOLHURST, 1978). Um sistema é considerado linear se satisfizer os princípios da aditividade e homogeneidade. Ou seja, se uma entrada  $x_1$  gera uma saída  $y_1$  e se outra entrada  $x_2$  gera uma saída  $y_2$ , então, quando as duas entradas estiverem atuando no sistema, o efeito total será  $y_1 + y_2$ .

Além disso, se a entrada for multiplicada por uma constante  $k$  qualquer, a saída também deverá possuir esse fator multiplicativo (LATHI, 2004), vide equação 1.1:

$$k_1x_1 + k_2x_2 \longrightarrow k_1y_1 + k_2y_2 \quad (1.1)$$

Em 1822, o francês Jean-Baptiste Joseph Fourier, propôs que qualquer sinal periódico pode ser decomposto em um somatório de senos e cossenos com diferentes amplitudes e frequências (FOURIER, 2009). Essa decomposição, conhecida como Decomposição em Série de Fourier, é uma operação linear que pode ser aplicada a qualquer tipo de oscilação periódica no tempo ou no espaço. Aplicando esse conceito, se uma célula é aproximada a um sistema linear e estimulada com uma grade senoidal, a transformada de Fourier de sua resposta evocada mostrará uma grande parcela de sua energia concentrada na frequência temporal de estimulação (MOVSHON; THOMPSON; TOLHURST, 1978; SKOTTUN et al., 1991). No caso de registros extracelulares, os neurônios corticais classificados como simples possuem uma resposta bem característica: aumento de sua atividade quando a alta e baixa luminosidade sobrepõe as sub-regiões excitatórias e inibitórias, respectivamente. Com isso, sua resposta terá a forma de uma senoide quando submetida a um retificador de meia-onda. Por outro lado, uma célula complexa, apresenta campos receptivos sem uma organização espacial bem definida e por isso possuirá uma resposta na forma de um degrau. A partir disso é possível diferenciar quantitativamente uma classe da outra a partir de sua sensibilidade à fase. A figura 2 mostra uma representação esquemática para a classificação das células em simples e complexas.

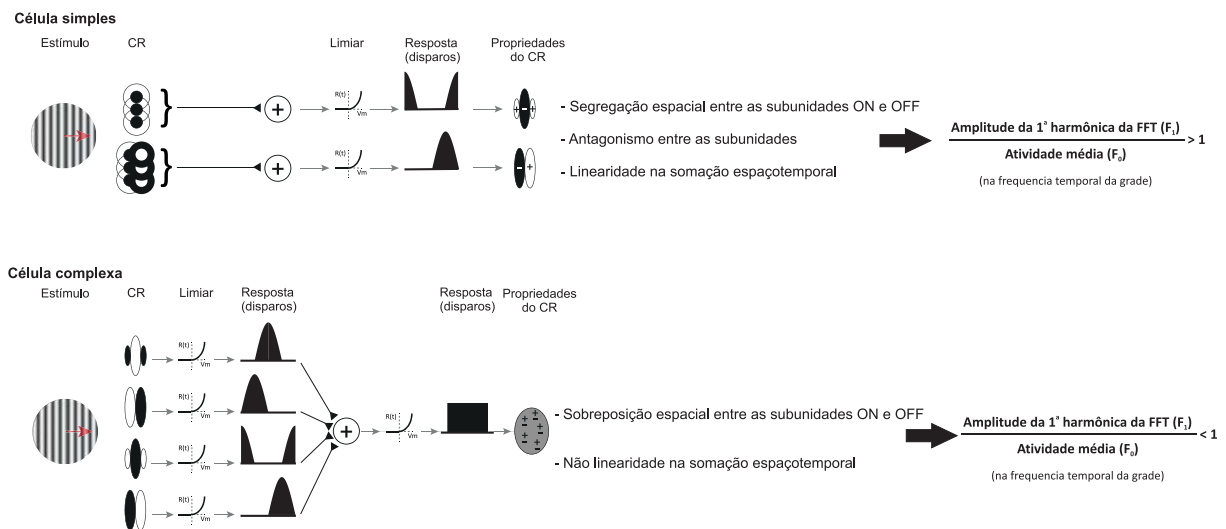


Figura 2: Representação esquemática da classificação das células em simples e complexas.

Quando um neurônio é estimulado por uma grade senoidal em movimento, sua sensibilidade a fase, também chamada linearidade da somação espacial ou modulação da resposta, pode ser calculada como sendo a razão entre a amplitude da primeira componente harmônica da Transformada de Fourier da resposta induzida na frequência temporal do estímulo ( $F_1$ ) e a taxa de disparo média da resposta induzida ( $F_0$ ). Se  $F_1/F_0 > 1$  a célula é classificada como simples, caso contrário ( $F_1/F_0 < 1$ ) é classificada como complexa (SKOTTUN et al., 1991).

Contudo, algumas descobertas colocam em dúvida se a métrica de classificação baseada na razão de  $F_1/F_0$  é completamente correta, questionando a necessidade de se provar a real existência de uma distribuição bimodal quanto às propriedades das respostas corticais (FOURNIER et al., 2011; BARDY et al., 2006; PRIEBE et al., 2004; MARTINEZ; ALONSO, 2003; ABBOTT; CHANCE, 2002; MECHLER; RINGACH, 2002; CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999). Tais questionamentos levantam a hipótese das células simples não serem uma classe separada das células complexas. Atualmente as linhas de pensamento quanto à classificação das células em simples ou complexas podem ser divididas em quatro propostas de modelos como será descrito a seguir.

### 1.2.3 Topologias de circuitos subjacentes à construção de CR simples e complexos

#### 1.2.3.1 Modelo hierárquico

O modelo hierárquico é a hipótese original para explicar a topologia dos circuitos subjacentes à construção de campos receptivos das células simples e complexas. Esse modelo se baseia em estudos e comparações das propriedades dos CRs do NGL e de V1 (HUBEL; WIESEL, 1962, 1959). De acordo com esse modelo proposto por Hubel e Wiesel (1962), os CRs das células simples são construídos pela convergência das projeções do NGL com CRs alinhados no espaço visual. Por outro lado, CRs complexos se originam da convergência de células simples com preferências de orientações similares. A figura 3 ilustra a representação esquemática para esse modelo.

Apesar da proposta de Hubel e Wiesel ter sido elaborada há mais de 50 anos, vários pesquisadores têm encontrado fortes evidências de sua validade e da existência de duas populações distintas de células corticais em V1. Inicialmente tais estudos tiveram como objetos de pesquisa gatos anestesiados e se basearam nos seguintes achados: células simples são encontradas segregadas em camadas corticais específicas (HUBEL; WIESEL, 1962); a grande maioria das células estreladas da região 17 do gato são simples (MARTINEZ et

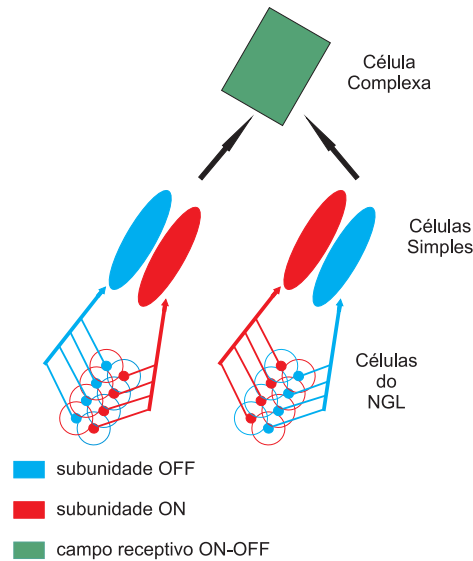


Figura 3: Modelo Hierárquico. Células simples projetam-se para camadas superiores gerando campos receptivos de células complexas.

al., 2002); na camada 4 todas as células simples possuem estrutura de campos receptivos consistentes com uma organização *push-pull* (cada região *ON* recebe excitações *ON* e inibições *OFF* e cada região *OFF* recebendo excitações *OFF* e inibições *ON* (HIRSCH, 2003)); células simples foram encontradas recebendo entradas diretas do NGL e estão massivamente presentes na camada 4 (ALONSO; MARTINEZ, 1998; REID; ALONSO, 1995; MARTIN; WHITTERIDGE, 1984); registros *in vivo* de neurônios marcados intracelularmente mostraram que a maioria dos neurônios da camada 4 se projetam para camadas superiores do córtex onde a maioria dos neurônios são complexos (MARTINEZ et al., 2002, 1999; MARTIN; WHITTERIDGE, 1984); a maioria das células simples geram respostas praticamente lineares (SKOTTUN et al., 1991; DEAN; TOLHURST, 1983; HUBEL; WIESEL, 1962) e a partir de estudos dos efeitos da variação do contraste em células complexas em (KLEEF; CLOHERTY; IBBOTSON, 2010) foi verificado que o modelo que melhor conseguia reproduzir os seus resultados experimentais é uma variação do modelo hierárquico.

Além de gatos, as células simples e complexas têm sido encontradas no córtex visual primário de outras espécies de mamíferos anestesiados: macacos (TOLHURST; MOVSHON; DEAN, 1983), ovelhas e cordeiros (KENNEDY; MARTIN, 1983), coelhos (GLANZMAN, 1983), camundongos (GOODWIN; HENRY; BISHOP, 1975), ratos (METIN; GODEMENT; IMBERT, 1988; BURNE; PARNAVELAS; LIN, 1984), gambás (CREWETHER; CREWETHER; SANDERSON, 1984; ROCHA-MIRANDA et al., 1976), cangurus (IBBOTSON; PRICE; CROWDER, 2005) dentre outros.

Por outro lado, esta proposta é colocada em dúvida pois foram encontradas algumas células complexas que recebem projeções diretas do NGL (FERSTER; LINDSTROM, 1983; TANAKA, 1983; HOFFMANN; STONE, 1971), não foram encontradas evidências de conexões excitatórias das células simples para as células complexas (FREEMAN, 1996) e inativando os neurônios do NGL é possível silenciar as células simples da camada 4 sem afetar as respostas das células complexas nas camadas superiores (MALPELI, 1983).

### 1.2.3.2 Modelo paralelo

A primeira forte evidência contra o modelo hierárquico foi a descoberta de que algumas células complexas recebem entradas monossinápticas do tálamo (FERSTER; LINDSTROM, 1983; TANAKA, 1983; HOFFMANN; STONE, 1971). Isso sugere que, em gatos, ambos os tipos celulares são gerados em paralelo por diferentes vias tálamo-corticais. A base para essas diferentes vias seria a existência de convergência de projeções de células-X (lineares) da retina para células-X do NGL e convergência de projeções de células-Y (não lineares) da retina para células-Y do NGL (STONE; DREHER; LEVENTHAL, 1979; SHAPLEY; HOCHSTEIN, 1975). Tendo em vista tais evidências Hoffmann (1971) propõem que as células simples seriam construídas a partir da convergência de projeções do NGL por meio de células-X e as células complexas, a partir da convergência das projeções de células-Y do NGL. A figura 4 mostra a representação dessa proposta.

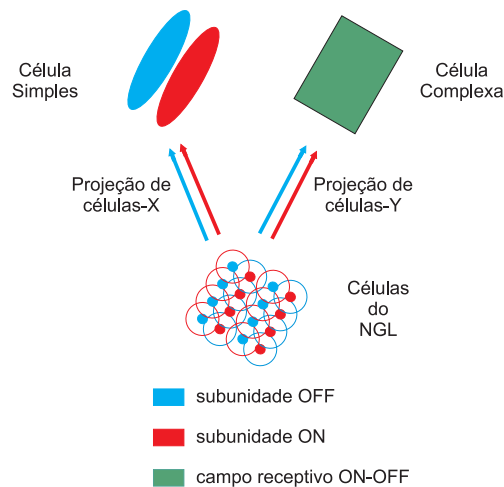


Figura 4: Modelo Paralelo. Células simples e complexas recebem projeções tálamo-corticais.

Experimentos realizados por Malpeli (1983) reforçaram tal proposta mostrando que algumas células complexas pareciam responder a estímulos visuais que não afetavam as células simples. Contudo, a ideia de dois canais separados (células simples-X e células

complexas-Y) foi colocado em dúvida por vários pesquisadores (MARTIN; WHITTERIDGE, 1984), sendo que o impacto da via Y na área 17 do gato é fraco (BURKE et al., 1992) e que as células simples e complexas respondem ao mesmo tipo de estímulo (SKOTTUN et al., 1991).

### 1.2.3.3 Modelo recorrente

O modelo recorrente se baseia na natureza do circuito cortical em si, sendo que o número de sinapses do NGL é somente uma fração das sinapses excitatórias totais recebidas pelas células corticais. As respostas corticais devem ser determinadas principalmente por estímulos corticais e não por estímulos talâmicos. Os pressupostos para o modelo recorrente são três: (i) as entradas talâmicas excitatórias são fracas porque sinapses do NGL representam menos de 10% das sinapses excitatórias totais dentro da camada 4; (ii) excitações dos neurônios vizinhos são muito fortes e servem para amplificar as fracas entradas talâmicas; (iii) inibições corticais fracas controlam o ganho da amplificação cortical prevenindo excitações descontroladas e ajustam o desempenho da rede para mudanças na estimulação visual. A figura 5 exemplifica a ideia de dois possíveis modelos recorrentes (MARTINEZ; ALONSO, 2003; CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999; DEBANNE; SHULZ; FREGNAC, 1998).

Entretanto, alguns contra-argumentos em relação a esse modelo podem ser levantados, como por exemplo, a ideia de que as sinapses oriundas das projeções do NGL são mais fracas que as corticais. Quando comparadas às corticais, as sinapses no NGL são maiores, estão localizadas mais próximas ao corpo celular, possuem mais botões sinápticos e potenciais pós-sinápticos excitatórios maiores (AHMED et al., 1994). Além disso, neurônios desse núcleo talâmico possuem taxa de disparo mais altas que os corticais; vários neurônios do NGL que convergem para o mesmo neurônio cortical geram disparos precisos e fortemente sincronizados; inativar uma pequena área do NGL é suficiente para silenciar a atividade da maioria das células corticais da camada 4 enquanto uma inativação de mesma área cortical gera somente efeitos sutis sobre a resposta de uma célula cortical (MARTINEZ; ALONSO, 2001). Seria errado estimar a força de uma dada via baseando-se somente no número de contatos sinápticos.

Apesar dos contra-argumentos acima, o modelo recorrente se baseia na possibilidade das redes recorrentes alterarem a força das respostas *ON-OFF*. De fato, modificando a força das respostas *ON-OFF*, também é possível transformar uma célula simples em complexa e vice-versa (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999).



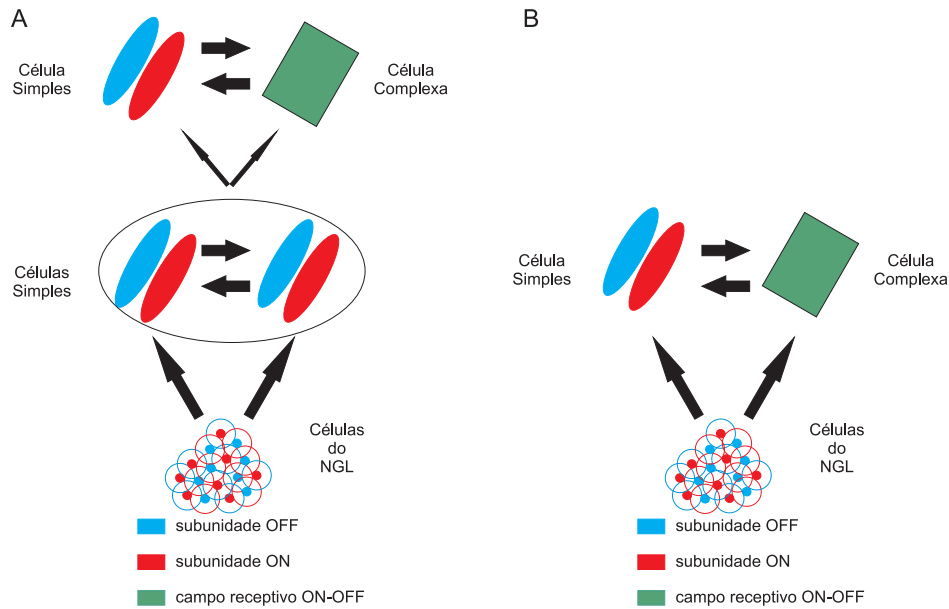


Figura 5: Dois exemplos para o modelo recorrente. Células simples e complexas são configuradas dependendo da força de suas conexões recorrentes. O modelo proposto em A enfatiza os diferentes ganhos ou ampliações nas conexões excitatórias em camadas superiores (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999), enquanto que no modelo proposto em B as conexões recorrentes poderiam ser somente excitatórias (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999) ou excitatórias e inibitórias (DEBANNE; SHULZ; FREGNAC, 1998).

Como visto no modelo hierárquico, um estímulo apresentado em uma sub-região *ON* de uma célula simples gera respostas *ON*, pois tal estímulo ativará praticamente o centro dos campos receptivos das células centro *ON* do NGL. Mas assumindo ausência de inibição cortical, esse mesmo estímulo ativará respostas *OFF* devido a dois fatores: contornos *OFF* que sobrepõem sub regiões *ON* de outras células (fig 6 A); e células centro *OFF* que possuem sobreposições de seu centro em sub regiões *OFF* de células centro *ON* (fig 6 B).

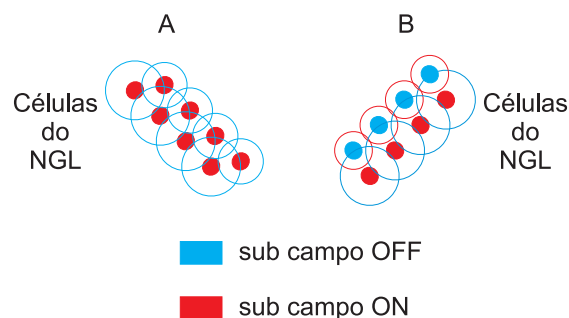


Figura 6: Configurações de células do NGL para ativação de respostas *off*.

A partir dessa ideia, foi proposto que em uma rede de neurônios onde existe amplificação cortical seletiva, neurônios exibirão um comportamento de células simples quando

as conexões recorrentes forem fracas e de células complexas quando tais conexões forem fortes (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999). Isso sugere que as células simples e complexas são limites de ganhos baixos e altos dos mesmos circuitos corticais básicos e o efeito da seletividade neuronal dependerá do padrão das ligações dentro do circuito.

#### 1.2.3.4 Modelo híbrido

No trabalho de revisão desenvolvido por Martinez e Alonzo (2003), os autores discutem os modelos apresentados acima mostrando que todos os modelos possuem argumentos contraditórios. Dessa forma Martinez e Alonzo (2003) propuseram um modelo híbrido para agrupar características dos modelos anteriormente citados. A representação esquemática do modelo proposto pode ser vista na figura 7.

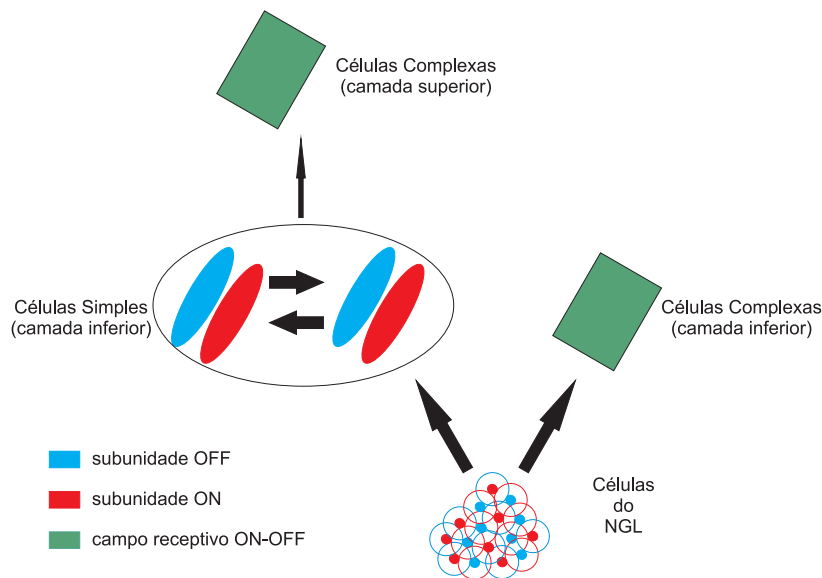


Figura 7: Modelo Híbrido. A definição de células simples e complexas abrange as ideias atuais dos modelos hierárquicos, paralelo e recorrente.

A estrutura do modelo híbrido é hierárquica, possuindo parcialmente, alguns campos receptivos complexos que podem ser gerados paralelamente a campos receptivos simples a partir de entradas diretas do NGL (como sugerido pelo modelo paralelo). Além disso, as células corticais estão fortemente interconectadas e suas respostas são susceptíveis a serem moduladas por ligações recorrentes (como sugerido pelo modelo recorrente).

Apesar das críticas a cada um dos modelos apresentados e mesmo se novos modelos evoluírem e se tornarem mais precisos, a ideia de que células simples e complexas podem representar um contínuo deverá se manter. Sendo assim, ainda são necessários estudos

para um melhor entendimento de como os campos receptivos podem se configurar originando células simples ou complexas e como tais características de CR influenciam na codificação de atributos visuais.

### 1.3 Importância funcional das células simples e complexas

As funcionalidades das células encontradas em V1 ainda não foram completamente desvendadas, mas existem algumas hipóteses. No caso das células simples, podemos destacar ao menos três hipóteses. A primeira delas se baseou em sua capacidade em decodificar informações de contorno e barras devido às características estruturais de seu campo receptivo. A segunda foi a teoria da análise de frequência espacial local, na qual se baseia em princípios de processamento de sinal e indica que essas células seriam aproximadas a filtros lineares de frequências espaciais (OLSHAUSEN; FIELDT, 1997; OLSHAUSEN; FIELD, 1996; SIMONCELLI; OLSHAUSEN, 2001; FIELD, 1987; SHAPLEY; LENNIE, 1985; MAFFEI; FIORENTINI, 1973). Os resultados encontrados em (HURRI; HYVÄRINEN, 2003) também sugerem que os campos receptivos de células simples são semelhantes a filtros lineares que maximizam a correlação temporal da resposta quando o estímulo de entrada é composto de sequências de imagens naturais. Por outro lado, as respostas das células complexas são caracterizadas por possuírem seletividade à orientação, mas não à sensibilidade de fase espacial quando estimuladas por grades senoidal (SKOTTUN et al., 1991; DEVALOIS; ALBRECHT; THORELL, 1982; MOVSHON; THOMPSON; TOLHURST, 1978). Apesar da insensibilidade à fase espacial, os resultados encontrado em (SHAMS; MALSBERG, 2002) indicam que enquanto a informação de fase é perdida individualmente pelas células complexas, a representação fornecida por uma população dessas células codificaria a informação de fase que é necessária para o reconhecimento de objetos tendo como estímulo imagens estáticas. Com isso, um conjunto de células complexas seria capaz de identificar objetos e perceber variações no fundo da imagem, iluminação e pequenas deformações.

O papel funcional das células simples e complexas é um tema ainda muito discutido e tem intrigado os pesquisadores desde que Hubel e Wiesel (1962) mapearam pela primeira vez a estrutura de seus campos receptivos. Essas discussões são indispensáveis e ainda necessárias, pois ao tentar desvendar as funcionalidades das células de V1 abrem-se precedências para um melhor entendimento dos correlatos neurais da percepção visual.

## 1.4 Caracterização 2D dos campos receptivos

A caracterização tradicional de campos receptivos utilizando grades senoidais tem como foco a estrutura espacial dos mesmos, contudo existem duas grandes limitações nesta caracterização. Uma delas é que a dinâmica temporal das respostas neuronais não é descrita. Além disso, a dinâmica temporal pode variar muito de uma localização espacial para outra dentro do campo receptivo (DEANGELIS; OHZAWA; FREEMAN, 1993a, 1993b). A outra limitação é a impossibilidade de se fazer uma caracterização rigorosa de todas as propriedades de respostas não lineares. A resposta de um neurônio a estímulos múltiplos distribuídos no espaço e tempo muitas vezes não é igual à soma das respostas aos estímulos individuais, e em vários casos, a componente dominante da resposta reflete interações não lineares entre estímulos (RINGACH, 2004; RINGACH; SHAPLEY, 2004). Uma delas é intrínseca ao mecanismo de geração de potenciais de ação. Com isso o mapeamento precisa levar em consideração a dinâmica espacial e temporal do campo receptivo.

A técnica de mapeamento por correlação reversa visa estimar a resposta a um impulso de estimulação espaço-temporal de uma célula sensorial no intuito de estudar como a mesma soma sinais de diferentes locais em seu campo receptivo, e também como ela integra estímulos recebidos em momentos diferentes para gerar tal resposta. A principal vantagem desta técnica é que ela descreve a dinâmica temporal das respostas neuronais e considera o processamento da informação realizada pelos neurônios por meio de interações espaço temporais tanto linear quanto não linear (RINGACH, 2004; RINGACH; SHAPLEY, 2004; RINGACH, 2002; REID; VICTOR; SHAPLEY, 1997; RINGACH; SAPIRO; SHAPLEY, 1997; JONES; PALMER, 1987).

Para simplificar a descrição desta técnica, neurônios podem ser aproximados a um transdutor de estímulo-resposta acionado por estímulos visuais. Assumindo que tal transdutor é linear e invariante no tempo é possível caracterizá-lo pela sua resposta ao impulso (RINGACH; SHAPLEY, 2004; CHALUPA; WERNER, 2004). O impulso unitário pode ser interpretado como um pulso retangular com largura infinitamente pequena e altura infinitamente grande possuindo uma área total igual a um (LATHI, 2004). Com isso, conhecendo sua resposta ao impulso automaticamente todas suas respostas serão conhecidas para qualquer entrada. Essa afirmação pode ser feita porque sistemas lineares invariantes no tempo obedecem aos princípios da homogeneidade e superposição. Isto é, se várias entradas atuam no sistema, o efeito total dessas entradas pode ser determinado considerando cada uma separadamente. A figura 8 ilustra um sistema considerado linear e invariante no tempo podendo ser caracterizado pela sua resposta ao impulso.

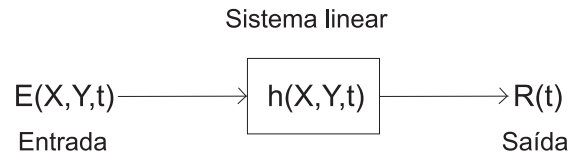


Figura 8: Representação de um sistema linear e invariante no tempo.  $X$  e  $Y$  representam a estrutura espacial do campo receptivo no instante  $t$ .

Como pode ser visto pela figura 8, o processo de mapeamento do campo receptivo é feito pela estimação da resposta ao impulso  $h(X, Y, t)$ . Inicialmente, são feitas medições e gravações da resposta  $R(t)$  de um neurônio a um estímulo momentâneo  $E(X, Y, t)$  apresentado várias vezes em diferentes posições no tempo e espaço (JONES; PALMER, 1987). Dessa forma, a correlação cruzada entre a resposta da célula e a sequência utilizada como estímulo visual é utilizada como a relação entrada-saída do neurônio sob análise para diferentes atrasos de tempo  $\tau$ .

Aproximando o estímulo  $E(X, Y, t)$  a um ruído branco, a entrada do sistema possuirá o espectro de potência espalhado em todas as frequências (mesma energia para todas as frequências), ou seja, a autocorrelação da entrada é a função impulso. Com isso a função de correlação cruzada da resposta com a sua entrada sendo um ruído branco é igual à resposta ao impulso da célula analisada (RINGACH; SHAPLEY, 2004).

A correlação reversa pode ser resumida da seguinte forma: para cada potencial de ação as configurações espaciais dos estímulos anteriores  $E(X, Y, \tau - t)$ , são adicionadas separadamente para cada atraso entre o estímulo e a resposta ( $R(t)$ ). Depois de um número suficiente de potenciais de ação, essas somas convergem para uma caracterização espacial do campo receptivo, paramétrico no tempo. Dessa forma, esse método cria um mapa de campo receptivo ( $CR_{mapa}$ ) padrão para cada atraso de tempo  $\tau$  e pode ser dado pela equação 1.2 (REID; VICTOR; SHAPLEY, 1997):

$$CR_{mapa}(X, Y, \tau) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N R_n(t_i^n) E_n(X, Y, t_i^n - \tau) \quad (1.2)$$

Onde  $CR_{mapa}(X, Y, \tau)$  é o mapa do campo receptivo para o atraso  $\tau$ ,  $R_n$  é a  $n$ -ésima resposta,  $E_n(X, Y, t_i^n - \tau)$  é o  $n$ -ésimo estímulo para o atraso  $\tau$ ,  $t_i^n$  é o instante de tempo do  $i$ -ésimo disparo no  $n$ -ésimo *trial* e  $N$  é número total de *trials*.

As subunidades dos campos receptivo das células simples podem ser separáveis no espaço e no tempo, o que significa que as respostas características espaciais e temporais

podem ser dissociadas em sub-regiões *ON* ou *OFF*. Por outro lado as células complexas não apresentam essa característica acarretando em uma sobreposição espacial das sub-regiões *ON* e *OFF*.

Para o mapeamento do campo receptivo, em uma região *ON* o estímulo que precede cada potencial de ação terá sido mais claro que a luminância média de fundo de tela (barra branca), por outro lado, em uma região *OFF* o estímulo terá sido mais escuro que a luminância média de fundo de tela (barra preta). Com isso, o campo receptivo é caracterizado pelo estímulo que, em média, tende a preceder cada potencial de ação, ou seja, o estímulo que tende a fazer o neurônio disparar.

Jones e Palmer (1987) foram os primeiros a utilizarem pequenas barras retangulares de estímulos claros e escuros em locais aleatórios dos campos receptivos com o objetivo de mapear suas subunidades. O estudo foi realizado somente em células simples na área 17 de gatos e a resposta espacial ao impulso foi estimada a um intervalo de tempo fixo de 50 ms por meio da correlação cruzada entre os disparos evocados e pela posição e tempo de ocorrência do estímulo. Um exemplo desse mapeamento pode ser visto pela figura 9 (JONES; PALMER, 1987). O estímulo era espalhado no tempo (o estímulo só existia em uma posição (X,Y) de cada vez, as outras posições eram mantidas com a luminância de fundo de tela) podendo ser aproximado a um ruído branco no espectro de potência. Devido a suas características, tal ruído foi denominado como um ruído esparso, espalhado no tempo e espaço.

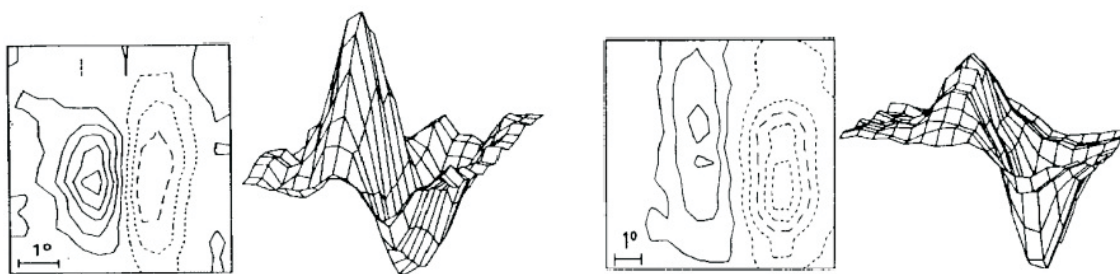


Figura 9: Exemplos de mapeamento por correlação reversa de células simples da área 17 de gatos medidos por Jones e Palmer. As bordas sólidas representam áreas excitatórias e as tracejadas áreas inibitórias. Figura original de (JONES; PALMER, 1987).

Usando um método similar, DeAngelis e colaboradores (1993a) mapearam as subunidades dos campos receptivos de neurônios na área 17 de gatos comparando essas estruturas nos gatos adultos e recém nascidos (4 e 8 semanas). A figura 10 mostra o resultado deste tipo de mapeamento para uma célula simples. Os 4 painéis empilhados no topo da figura 10 mostram perfis bi-dimensionais (2-D) do campo receptivo espacial

para 4 valores diferentes da correlação reversa com parâmetros de atraso ( $\tau = 20, 60, 100$  e  $140$  ms; vide equação 1.2). Cada perfil espacial em 2-D é mostrado como um gráfico de densidade de escala de cinza, em que os pixels brancos indicam respostas a uma pequena barra brilhante e pixels pretos indicam respostas a uma pequena barra escura.

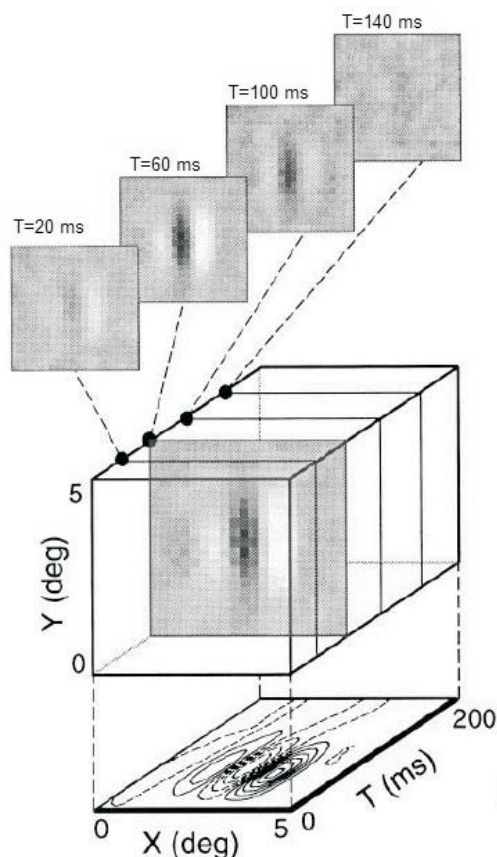


Figura 10: Método de construção de perfis de campo receptivo espaço-temporais para células simples. Figura original de (DEANGELIS; OHZAWA; FREEMAN, 1993a)

Embora esse tipo de análise de sistemas por meio de correlação cruzada tenha sido uma consequência natural da teoria baseada em estímulos que usam o ruído esparsos como sinais de entrada, tais estímulos não são capazes de detectar interações não lineares entre as componentes do estímulo pois apenas uma ou duas regiões são moduladas em qualquer ponto no tempo (REID; VICTOR; SHAPLEY, 1997). Outro ponto que precisa ser levado em consideração em relação à estimulação a ser aplicada é que neurônios em regiões mais integradas do sistema visual possuem campos receptivos mais complexos (LIVINGSTONE; HUBEL, 1988). Tais neurônios responderiam menos tendo um ruído esparsos como estímulo e consequentemente a aplicabilidade da correlação reversa seria limitada. Esse problema ocorre ao se mapear as células de V1 devido a suas seletividades à orientação. Com isso, outras técnicas de estimulação têm sido desenvolvidas.

Uma dessas técnicas de estimulação é chamada de ruídos densos. Essa técnica apresenta estímulos em várias posições  $(x,y)$  ao mesmo tempo (cada posição  $(x,y)$  pode assumir uma luminosidade alta (barra branca), baixa (barra preta) ou média (barra com luminância do fundo de tela)). Comparado ao estímulo esparso os estímulos densos também possuem um espectro de potência que se aproxima a um ruído branco e sua luminância média é praticamente a luminância média de fundo de tela. Todos os métodos que utilizam esse tipo de ruído podem ser usados para caracterizar não linearidades nas estruturas dos campos receptivos, uma vez que eles exploram sistemas que possuem padrões de entradas ricos em informações espaço-temporais. Assim como os ruídos esparsos, os ruídos densos também podem ser utilizados na caracterização de campos receptivos lineares possuindo a vantagem de poder excitar várias células simultaneamente e, assim, permitir observar uma gama mais ampla de interações córtico-corticais que pode ser obscurecida pelas técnicas que usam ruído esparso.

Dentre os ruídos densos, podemos citar como exemplo a sequência de registro com o deslocamento de comprimento máximo (sequência-m) (RINGACH, 2004; REID; VICTOR; SHAPLEY, 1997). A sequência-m é uma sequência binária de valores 1 e -1 que, embora se assemelhe a um ruído branco, tem uma estrutura temporal determinística que lhe confere algumas vantagens práticas. Cada sequência-m é calculada por meio de um algoritmo determinístico que descreve operações de um registrador de deslocamento e possui quatro propriedades que são fundamentais para a análise de sistemas: (1) seu valor médio é próximo de 0; (2) a sua função de autocorrelação é praticamente zero para todos os pontos (se aproxima a um ruído branco); (3) uma sequência-m de ordem  $n$  possuirá um comprimento total  $2^n - 1$  e cada sequência de 1 e -1 de tamanho  $n$  ocorrerá somente uma vez; (4) o produto de uma sequência-m por uma cópia própria deslocada no tempo é a mesma sequência-m, mas com um ponto inicial diferente. Com isso, cada pixel no campo visual pode ser modulado pela mesma sequência-m, com diferentes pontos iniciais no tempo. A correlação cruzada do estímulo espaço-temporal (todos os deslocamentos de tempos da sequência-m) com o trem de disparo do neurônio irá produzir funções de correlação cruzada para cada pixel, que será a estimativa da resposta ao impulso espaço-temporal em cada localização de pixel.

Um outro ruído, chamado ruído de Gabor, foi proposto para minimizar o problema da seletividade à orientação das células do córtex visual primário de primatas (RINGACH, 2002). Neste caso, a correlação reversa foi modificada para uma correlação reversa subespaço onde o estímulo foi restringido a alguns subconjuntos dentro do conjunto de todas as imagens aleatórias possíveis. Grades senoidais com várias frequências espaciais, ori-



entações e fases obtidas por uma função de Gabor foram utilizadas como as imagens aleatórias. Embora o conjunto de estímulos seja restrito e muito diferente de um ruído branco, o cálculo da correlação reversa também pode resultar em uma estimativa espaço-temporal do campo receptivo do neurônio com alta relação sinal/ruído. A diferença na análise para se obter o mapeamento do campo receptivo é que, ao invés de se calcular a média da imagem antes dos disparos do neurônio, calcula-se o espectro de amplitude média do estímulo por meio da Transformada de Fourier (MALONE; RINGACH, 2008; FOURNIER et al., 2014).

## 1.5 Evidências de campos receptivos dinâmicos

Apesar dos campos receptivos no córtex visual primário de mamíferos serem classificados como simples ou complexos dependendo de sua seletividade espacial. De acordo com alguns resultados encontrados na literatura, esses campos não são uma caracterização invariante das propriedades espaciais de um neurônio como mostram os trabalhos a seguir.

DeAngelis e colaboradores (1995) foram um dos primeiros pesquisadores a mostrar variações nas propriedades dos campos receptivos. Realizando o mapeamento 2D dos campos receptivos os autores mostraram que as estruturas espaciais dos campos receptivos eram dinâmicas podendo se alterar em função do tempo (DEANGELIS; OHZAWA; FREEMAN, 2005). Dessa forma, segundo os autores, os campos receptivos só poderiam ser adequadamente caracterizados analisando suas estruturas no tempo e espaço.

Meliza e Dan (2006) mostraram que o pareamento de estímulos visuais em ratos anestesiados induziam rápidas modificações no perfil espacial dos campos receptivos do córtex visual. Segundo os autores, o comportamento temporal da resposta para o estímulo visual no local do campo receptivo pareado é alterada de tal forma que há um aumento da resposta que precede o potencial de ação e uma diminuição da atividade após o mesmo (MELIZA; DAN, 2006). Tal modificação bidirecional estaria de acordo com a dependência temporal da plasticidade.

Yeh e colaboradores (2009) compararam mapas espaço-temporais de campos receptivos de neurônios de V1 apresentando diferentes estímulos visuais: ruído esparso e estímulos Hartley subespaciais. Utilizados macacos anestesiados, os resultados encontrados mostravam mapas muito diferentes quando neurônios das camadas superficiais de V1 eram analisados (YEH et al., 2009).

Realizando registros intracelulares em gatos anestesiados, Fournier e colaboradores

(2011) pesquisaram a dependência da classificação das células em simples ou complexas em relação a três tipos diferentes de estimulações visuais: ruídos esparso, denso e Gabor. Os resultados encontrados pelos pesquisadores revelaram que as componentes dos campos receptivos que os tornam mais parecidos a células simples ou complexas foram dimensionadas de forma diferente dependendo do tipo de estímulo utilizado. A figura 11 mostra um resultado representativo do trabalho desenvolvido pelos autores onde é exemplificado o mapeamento 2D de duas células.

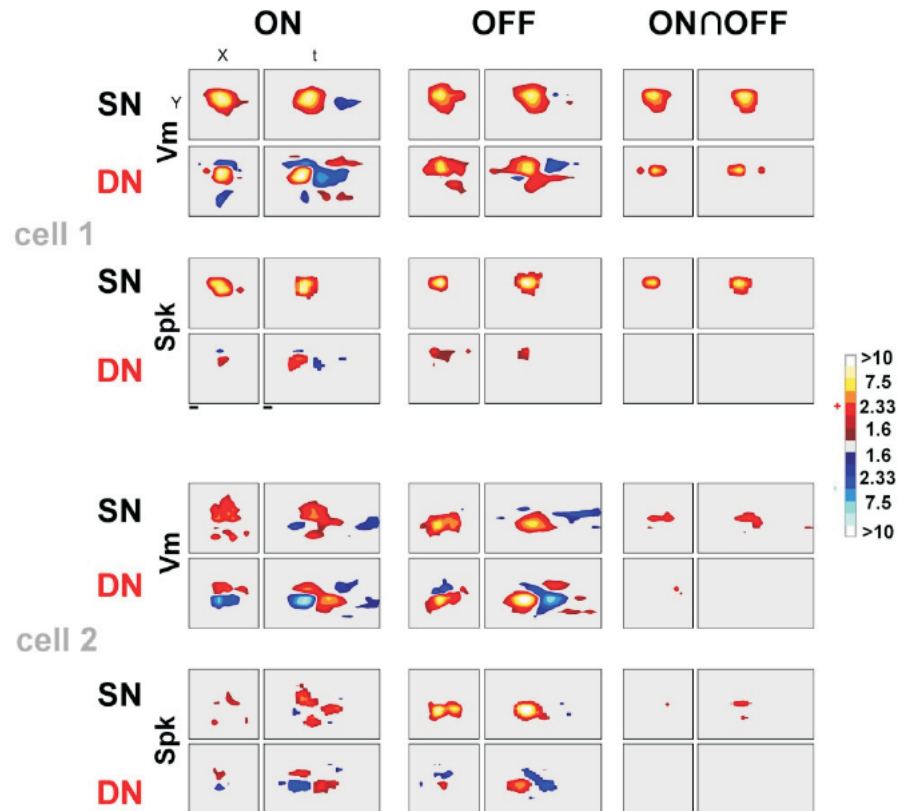


Figura 11: Decomposição das subunidades *ON* e *OFF* utilizando como estímulos ruídos esparso (SN) e denso (DN). As subunidades foram mapeadas à partir dos sinais do potencial de membrana ( $V_m$ ) e potenciais de ação ( $Spk$ ). A escala de cor indica os valores referentes à normalização utilizando z-score. Figura original de (FOURNIER, 2009).

Comparando os resultados obtidos pelos diferentes ruídos, o mesmo campo receptivo aparentou ser mais complexo quando o estímulo visual era um ruído esparso. Esse fato pode ser visualizado na figura 11 comparando-se a intersessão das subunidades *ON* e *OFF*. Quando o ruído esparso era aplicado foi possível visualizar a intersessão entre as subunidades, por outro lado quando o ruído denso era aplicado pouca ou nenhuma intersessão eram visualizada. Porém, uma vez que esses campos receptivos foram convoluídos com os respectivos estímulos, as contribuições dos comportamentos simples e complexos para as respostas sinápticas se mostraram invariantes ao estímulo utilizado. Essa nor-

malização da razão de entrada linear/não linear foi interpretada pelos autores como uma forma de controle homeostático das propriedades funcionais de V1. Segundo eles, essa forma de controle otimizaria as não linearidades da rede neural para os diferentes tipos de ruídos utilizados como estímulo visual.

Os trabalhos realizados por Durand e colaboradores (2012) mostraram os efeitos do contraste e da adaptação ao contraste nas características estáticas dos campos receptivos de V1 em macacos anestesiados. Neste trabalho dois estímulos visuais distintos (ruídos esparsos e grades senoidais) foram apresentados em três níveis de contraste: baixo, médio e alto. Os resultados encontrados utilizando estímulos esparsos mostraram que a largura do campo receptivo diminuiu proporcionalmente à diminuição do contraste. Contudo ao se apresentar grades senoidais deslizantes o diâmetro preferido do estímulo aumentou à medida que se diminuía o contraste (DURAND et al., 2012). Para explicar essa divergência encontrada os autores sugeriram que os estímulos aplicados poderiam recrutar diferentes conexões intercorticais caracterizadas por diferentes mecanismos de ganho.

Realizando registros path-clamp *in vivo*, Zhu e Yao (2012) mostraram que cenas naturais podem induzir modificações nos campos receptivos do córtex visual primário de ratos sedados. Os autores apresentaram estímulos esparsos para o mapeamento dos campos receptivos antes e após a apresentação de cenas naturais. Segundo eles, a similaridade entre a estrutura do campo receptivo e o subconjunto de imagens que despolarizam a célula aumenta após alguns minutos de condicionamento às cenas naturais. Este efeito se estenderia por mais alguns minutos na ausência de outros estímulos visuais. A partir de manipulações estatísticas nos vídeos por meio de embaralhamento temporal ou branqueamento espacial os autores mostraram também que a correlação espaço-temporal das cenas era importante na indução das modificações no campo receptivo (ZHU; YAO, 2012). Contudo, para os autores ainda não está claro como os campos receptivos são dinamicamente modificados pela estimulação de cenas naturais.

## 1.6 O wulst visual da coruja: um sistema interessante para uma abordagem comparativa

A coruja, diferentemente das outras aves, possui olhos frontais de enorme tamanho relativo apresentando uma porção considerável de seu cérebro dedicada ao processamento visual (IWANIUK; HURD, 2005; IWANIUK; WYLIE, 2006). Essas características justificariam a sua enorme capacidade visual atingindo alto desempenho em tarefas de localização

espacial, mesmo em condições de visibilidade desfavoráveis (WILLIGEN; FROST; WAGNER, 2002; NIEDER; WAGNER, 2001a, 2001b, 2000; WAGNER; FROST, 1994, 1993; PETTIGREW, 1979; PETTIGREW; KONISHI, 1976). Comparadas à maioria das aves, as corujas possuem uma área telencefálica visual (wulst visual) de tamanho atípico ocupando quase um quarto do volume total de seu cérebro (IWANIUK et al., 2008; IWANIUK; HURD, 2005; IWANIUK; WYLIE, 2006; KARTEN et al., 1973). As aves, assim como em mamíferos, possuem duas vias paralelas de processamento visual: talamofugal e tectofugal. Entretanto diferentemente de outras aves, a principal via nas corujas é a talamofugal, que é a entrada aferente para o wulst visual. De fato, estudos em pombos e pintos mostraram que lesões completas do wulst visual causam pouco ou nenhum déficit em tarefas simples de discriminação visual, ao contrário do que ocorre quando são realizadas lesões na via tectofugal desses animais (Hodos e Karten, 1970; Hodos e Bonbright, 1974; Pasternak e Hodos, 1977; Deng, 2006). Nessa via, a maioria das fibras da retina projetam-se para o NGL e a maioria das fibras do NGL projeta-se para o wulst visual (SHIMIZU; BOWERS, 1999; BRAVO; PETTIGREW, 1981; KARTEN et al., 1973).

O wulst visual compartilha similaridades funcionais com o córtex visual primário dos mamíferos: possuem pequenos campos receptivos com organização visuotópica e seletivos para orientação, frequência espaço-temporal e velocidade, percepção do contraste, disparidade binocular e percepção da direção do movimento (AMORIM, 2011; TURCHETTI-MAIA, 2011; PINTO; BARON, 2010; VIEIRA, 2010; PINTO; BARON, 2009; HARMENING et al., 2009; BARON et al., 2007; NIEDER; WAGNER, 2001a, 2001b, 2000; WAGNER; FROST, 1994, 1993; PETTIGREW, 1979). Tais similaridades indicam que, assim como em V1 nos mamíferos, o wulst visual da coruja contribui no processamento de várias habilidades visuais como, por exemplo, a estereopsia (NIEDER; WAGNER, 2001a, 2000), a percepção de contornos (NIEDER; WAGNER, 2001b), extração de superfície a partir do movimento (WILLIGEN; FROST; WAGNER, 2003, 2002) e atenção espacial (OHAYON et al., 2008).

Em relação à classificação celular quanto a linearidade da somação espacial, no wulst visual da coruja também são encontradas células simples e complexas (AMORIM, 2011; TURCHETTI-MAIA, 2011; PINTO; BARON, 2010; VIEIRA, 2010; PINTO; BARON, 2009; BARON et al., 2007; PETTIGREW, 1979). O trabalho de Pettigrew (1979), utilizando corujas anestesiadas (*Tyto alba*,  $n = 580$ ), foi o primeiro a mostrar tais células e suas semelhanças com as encontradas em V1 de mamíferos. Tais semelhanças indicam que o entendimento da funcionalidade dessas células no wulst visual da coruja também ajudaria a desvendar o problema exposto acima sobre as células simples e complexas e os modelos propostos para os circuitos subjacentes à construção de seus CRs. Apesar dos estudos anteriores de nosso

grupo já terem encontrado tais células, o tamanho das amostras de cada trabalho individualmente não era suficiente para, por exemplo, testar a bimodalidade na distribuição da linearidade da resposta no wulst visual (a presença da bimodalidade seria um indicativo de classes distintas entre as células simples e complexas). Essa questão será abordada futuramente neste trabalho aproveitando grande parte dos registros desenvolvidos até hoje em nosso laboratório.

Além disso, comparado aos primatas, os movimentos oculares das corujas são bem reduzidos alcançando uma amplitude máxima de  $0,5^\circ$  em *Athene cunicularia* (COOPER; PETTIGREW, 1979). Dessa forma uso da coruja como animal experimental dispensaria o monitoramento dos movimentos oculares facilitando o mapeamento dos CRs sem a necessidade de recorrer a anestesia ou a um treino prolongado para os animais aprenderem a fixar o olhar em algum ponto.

Em uma perspectiva mais ampla, o estudo do wulst visual pode ajudar no entendimento dos mecanismos neurais relacionados ao processamento visual utilizando a coruja como modelo comparativo.

## 2 *Objetivos*

### 2.1 **Objetivo principal**

O objetivo geral deste estudo foi investigar os neurônios do wulst visual das corujas tentando encontrar evidência de que as células simples e complexas não são duas classes distintas, mas representam duas extremidades de um contínuo que integra dinamicamente informações espaciais de acordo com a combinação específica de características visuais. Essa avaliação ocorreu inicialmente analisando-se a linearidade da somação espacial de suas respostas evocadas e posteriormente quanto à linearidade e não linearidade espaço-temporal das subunidades de seus campos receptivos.

### 2.2 **Objetivos específicos**

- A partir de registros extracelulares, classificar as células em simples e complexas em relação linearidade da somação espacial da resposta evocada verificando se essa classificação possui um padrão fixo de comportamento frente às modificações dos atributos visuais que formam o estímulo;
- Desenvolver e aplicar metodologias de mapeamento 2D de campo receptivo nos neurônios do wulst visual de corujas para investigar os mecanismos neuronais que formam suas estruturas internas caracterizando-os quanto à segregação espacial de suas subunidades;
- Estudar as composições dos campos receptivos a partir da decomposição das interações lineares e não lineares de suas subunidades por meio de técnicas de correlação reversa no tempo e espaço;

## ***3 Materiais e Métodos***

No presente capítulo será descrita a metodologia empregada nos registros extracelulares realizados, os diferentes protocolos de estimulação visual, a técnica de Bootstrap e a de detecção objetiva de respostas. Os experimentos descritos nesse capítulo foram realizados em 16 corujas-buraqueiras (*Athene cunicularia*). Todos os animais foram obtidos por doação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e mantidos com autorização do mesmo órgão (Licença nº 3106.6995/2012-MG).

### **3.1 Manutenção dos animais**

As corujas são mantidas em um aviário localizado nas dependências do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG. Todos os procedimentos adotados no decorrer deste estudo, referentes aos cuidados e utilização de procedimentos experimentais, foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, Universidade Federal de Minas Gérias (UFMG) protocolo nº 2004/01.

#### **3.1.1 Preparo dos animais**

O registro extracelular da atividade elétrica de neurônios do wulst visual em corujas acordadas foi realizado por meio 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 algumas horas para a realização dos registros. Para tanto, as corujas foram inicialmente socializadas por meio de manuseio diário por um período médio de quatro semanas. Foram utilizadas técnicas padrão de falcoaria, de acordo com as quais as corujas eram 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 (reforço positivo).

Após esse período inicial, os animais foram submetidos à cirurgia de implante do cilindro de registro (ver seção 3.1.2), após a qual se seguiu um período de recuperação de pelo menos quatro dias. Somente então se deu início ao treinamento para aceitação da imobilização corporal e fixação da cabeça. Para tal, os animais foram colocados sobre um poleiro e presos ao mesmo por alças de velcro e parcialmente envolvidos por uma jaqueta de couro para impedir o movimento das asas. Nessas condições, os animais foram frequentemente reforçados com pequenos pedaços de carne, sendo esse procedimento repetido gradualmente até que o animal parasse de dar sinais de estresse, 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 então 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.

### 3.1.2 Procedimento cirúrgico

Uma câmara de registro de baixo peso foi implantada cirurgicamente sobre a área cranial correspondente à região de interesse (wulst visual) de cada coruja. Essa mesma câmara foi utilizada para fixar a cabeça das aves durante os registros. A câmara constituiu-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 ( $\approx 0,7\%$  do peso do animal). A anestesia geral foi realizada com *Zoletil*<sup>®</sup> 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 por meio 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 para atingir o wulst visual no meio de sua dimensão antero/posterior e próximo à sua margem lateral chamada valécula. Essa região corresponde às representações foveal e parafoveal no mapa visuotópico do wulst descrito por Pettigrew (1979). A câmara de registro foi centrada nesse ponto de referência e fixada ao crânio com resina odontológica *VitroFil*<sup>®</sup>, 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, via intramuscular, um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de *Terramicina*<sup>®</sup>, Pfizer, São Paulo, Brasil), um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de *Ketofen*<sup>®</sup> 1%, Merial, São Paulo, Brasil) e, sobre a dura-máter exposta, um corticóide de uso tópico *Nepodex*<sup>®</sup>, Latinofarma, São Paulo, Brasil). A 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.

## 3.2 Registro eletrofisiológico extracelular

### 3.2.1 Dispositivo multieletrodo

Os registros eletrofisiológicos extracelulares foram realizados por meio de um dispositivo de multieletrodos desenvolvido no Instituto *Max-Planck for Brain Research* pelo Dr. Sérgio Neuenschwander como pode ser visto pela figura 12.

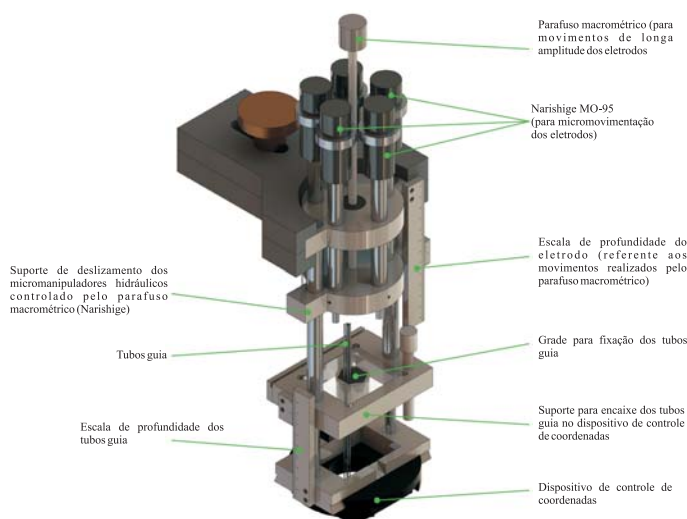


Figura 12: Representação esquemática do dispositivo multieletrodo baseado nos micromanipuladores hidráulicos e uma mesa X-Y para controle de coordenadas (partes do kit MO-95, Narishige, Japão). Projetado pelo Dr. Sérgio Neuenschwander no Instituto *Max-Planck for Brain Research*, Frankfurt, 2005. Representação esquemática realizada por Heitor de Oliveira, Instituto do Cérebro - UFRN, Natal. Cortesia do Dr. Sérgio Neuenschwander.

Tal dispositivo já é utilizado com sucesso em nosso laboratório (PINTO; BARON, 2010, 2009; BARON et al., 2007). Os eletrodos ( $n = 1-3$ ; Thomas Recording, Alemanha; impedância:  $0,3 - 0,7 \text{ M}\Omega$  a  $1 \text{ kHz}$ ; diâmetro do corpo:  $80\mu\text{m}$ ; diâmetro da ponta:  $\sim 2\mu\text{m}$ ) foram montados dentro de microtubos guia equidistantes, acoplados a 3 micro-manipuladores hidráulicos de precisão (Narishige, Japão). Esse dispositivo permite um posicionamento preciso e independente de pequenos grupos de eletrodos, tornando mais flexível o isolamento da atividade unitária. O dispositivo é preso à câmara de registro por meio 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.

### 3.2.2 Registro dos sinais neuronais

Os sinais extracelulares captados pelos eletrodos foram amplificados ( $\times 10.000$ ) e filtrados (filtro passa-faixa  $0,7 \text{ kHz} - 6 \text{ kHz}$ ; 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  $32 \text{ kHz}$ , 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  $2 \text{ GHz}$ , sob o controle de um sistema de programas computacionais SPASS, implementado em LabView (National Instruments, Texas, EUA), pelo Dr. Sérgio Neuenschwander, então 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 capacidade de resposta 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. A figura 13 apresenta o esquema geral do setup experimental utilizado durante nossos registros.

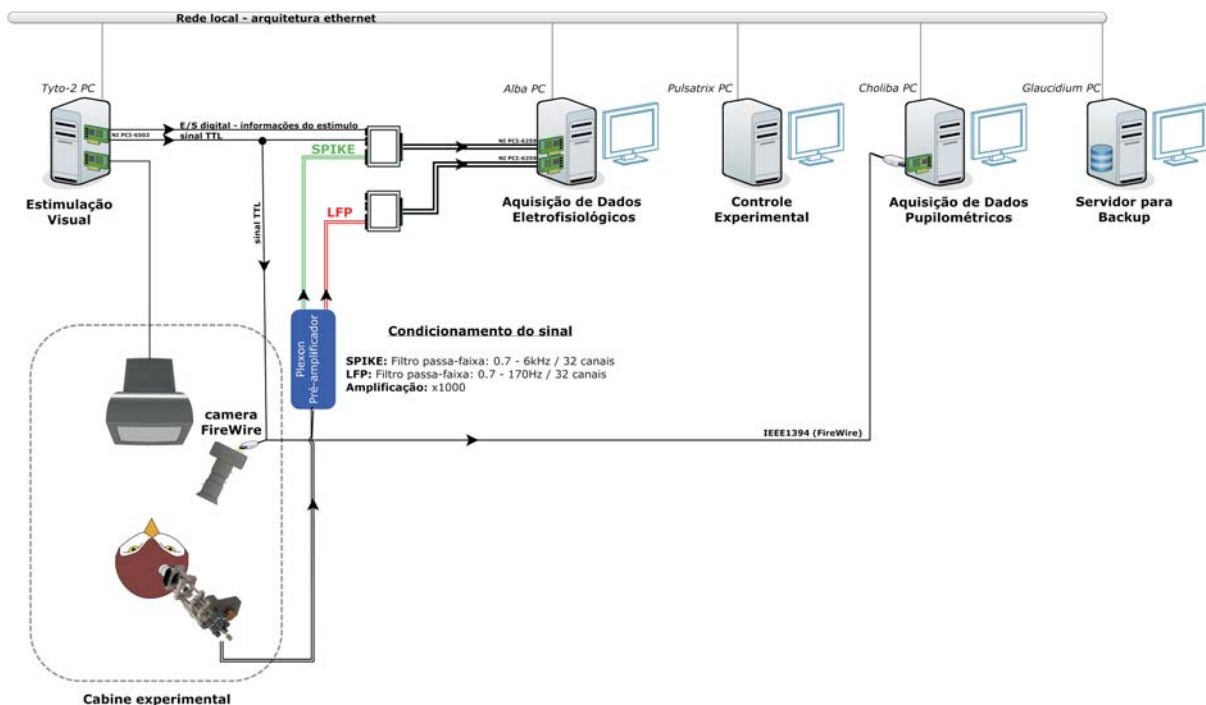


Figura 13: Visão geral do setup experimental. Os dispositivos utilizados para aquisição de dados são sincronizados via sinal TTL. A interconexão entre computadores é feito por meio de uma rede local.

### 3.3 Estimulação visual

Os estímulos visuais utilizados foram apresentados em um monitor CRT analógico de 19 polegadas (Samsung SyncMaster 955DF), com uma resolução de 1024 x 768 pixels. O monitor foi posicionado a 57 ou 66 cm do olho da coruja. As medidas de luminância do monitor para a correção gama foram realizadas com colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Inglaterra). Foi utilizada uma escala RGB de 8-bits com correção gama para produzir um comportamento linear da luminância apresentada no monitor. Para realizar essa correção, primeiro foi medido a luminância de vários tons da escala de cinza no monitor de apresentação de estímulos. Em seguida, gráficos das medidas foram gerados 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). A partir desse valor, gerou-se uma função inversa ( $y=x1/\text{gama}$ ) 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  $56 \text{ cd/m}^2$ , que se igualava à do fundo. Medidas fotométricas foram realizadas rotineiramente a fim de verificar a estabilidade da calibração do monitor. Os estímulos

foram preparados como sequências de imagens *bitmap*, por rotinas implementadas em Labview pelo Dr. Jerome Baron e apresentadas como filmes com grande precisão temporal na ordem de milissegundos, usando funções de comandos gráficos disponibilizadas pelo software ActiveStim ([www.activestim.com](http://www.activestim.com)).

Para a avaliação quantitativa das células, os estímulos visuais utilizados foram grades senoidais circulares em movimento a uma taxa de renovação de quadro de 100 Hz.

### 3.3.1 Identificação inicial dos campos receptivos

Após a descida dos eletrodos no wulst visual, 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 autofalante e pelo monitoramento de sua estabilidade (amplitude do sinal) no decorrer do tempo. O CR foi identificado manualmente ou por estímulos controlados por computador utilizando-se o método de campo de resposta mínima (BARLOW; BLAKEMORE; PETTIGREW, 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 sendo que a maioria das células encontradas era binocular, podendo ser excitada por estímulos apresentados a qualquer um dos olhos. Depois dessa avaliação preliminar, as medidas dos campos receptivos foram realizadas para o olho dominante com o centro do CR aproximadamente no centro da tela do monitor. O olho não dominante foi tampado.

### 3.3.2 Estímulos visuais para avaliação quantitativa das células

Os estímulos utilizados para a avaliação quantitativa das células foram grades senoidais circulares em movimento que podem ser definidas pela seguinte equação:

$$G(x, y, t) = G_0 \{1 + C \sin[2\pi f_s(x \cos \theta + y \sin \theta) - 2\pi f_t]\} \quad (3.1)$$

onde  $G_0$  é a luminância (candelas/m<sup>2</sup>),  $C$  o contraste (%),  $f_s$  a frequência espacial (ciclos/grau de ângulo visual),  $f_t$  a frequência temporal (ciclos/segundo),  $x$  e  $y$  estão associados ao tamanho da grade (graus de ângulo visual) e  $\theta$  à direção do movimento da grade (graus). Foram utilizados diferentes protocolos de estimulação para as análises rea-

lizadas nesta parte do trabalho. Esses protocolos correspondem a quatro estudos distintos desenvolvidos anteriormente em nosso laboratório.

Todos os estímulos foram apresentados em blocos de 10 repetições (*trials*) para cada condição (cada condição correspondente à variação de um ou dois parâmetros: frequências espacial ou temporal, contraste, tamanho e direção do movimento). Essa variação tinha o objetivo de determinar qual o conjunto de valores dos parâmetros da grade senoidal evocava a maior amplitude de resposta em uma determinada célula. Os valores otimizados a partir dessas medições foram usados para definir o que chamamos de “grade ótima” na qual as células eram classificadas em simples ou complexas. Como será descrito nas sessões seguintes, verificaremos a dependência da variação do tamanho e do contraste do estímulo na modulação da resposta celular.

Cada condição era apresentada em uma ordem pseudo-aleatória em blocos, de maneira a sempre apresentar as condições um mesmo número de vezes por bloco, garantindo assim o aproveitamento do registro caso ocorra alguma falha em um dos blocos. Os estímulos foram apresentados no centro do campo receptor (apenas ao olho para o qual foi obtida a maior resposta) e possuíam uma duração suficiente para que pelo menos um ciclo completo da grade senoidal fosse apresentado, mesmo em frequências temporais mais baixas. Os intervalos entre estímulos foram escolhidos para minimizar possíveis efeitos da história da estimulação antecedente sobre a estimulação atual.

Ao total, foram utilizadas 369 células, sendo que para alguns neurônios dois ou três protocolos foram utilizados para registrar sua atividade evocada como pode ser visto pela tabela 1. O tamanho dos estímulos, o tempo de apresentação, bem como suas configurações, variou de acordo com cada protocolo e serão detalhados a seguir.

Tabela 1: Número de registros utilizados em cada protocolo de estímulo

	P1	P2	P3A	P3B	P4	n <sup>o</sup> de células isoladas por protocolo
P1	78	25	–	–	–	103
P2	25	58	36	37	–	120
P3A	–	36	37	63	11	111
P3B	–	37	63	31	–	95
P4	–	–	11	–	65	76

### 3.3.2.1 Protocolo P1 - Variação das frequências espacial e temporal

Para este protocolo foram isoladas 103 células sendo que o estímulo utilizado possuía um contraste máximo e tamanho aproximado de 6° de ângulo visual. A movimentação

da grade senoidal sempre era feita na orientação e direção preferida de cada célula, segundo caracterização quantitativa prévia (PINTO; BARON, 2009). Foram utilizadas seis frequências espaciais e seis frequências temporais variando entre 0,25 e 8 Hz, em intervalos de uma oitava (-2 a 3 oitavas), resultando em um total de 36 combinações.

Em alguns registros foram utilizadas 5 FEs e 7 FTs. Nesse protocolo, o tempo total de cada *trial* era de 7 segundos, sendo que os estímulos eram apresentados durante 4 segundos sendo precedido e seguido da apresentação de campo uniforme de 1 e 2 segundos respectivamente (o campo uniforme possui a mesma luminância média do estímulo a ser testado). A atividade espontânea foi calculada a partir da taxa de disparo média durante o primeiro segundo de registro antes do início da apresentação do estímulo (para todas as condições e suas repetições).

### 3.3.2.2 Protocolo P2 - Variação do contraste

Neste protocolo foram isoladas 120 células. Os estímulos utilizados possuíam tamanho, direção do movimento, frequências espacial e temporal otimizados de acordo com a preferência da célula (VIEIRA, 2010). Procedeu-se, então, com a avaliação quantitativa da função de resposta ao contraste (FRC), enquanto todos os parâmetros citados anteriormente eram mantidos constantes. O contraste foi definido pela equação (3.2) (MICHELSON, 1927):

$$C = 100 \frac{Lum_{max} - Lum_{min}}{Lum_{max} + Lum_{min}} \quad (3.2)$$

Onde  $Lum_{max}$  e  $Lum_{min}$  são os níveis máximo e mínimo de luminância da grade senoidal, respectivamente. Para a maioria dos neurônios, a escala utilizada para o teste da FRC foi composta por treze valores de contraste (0, 2,6, 3,7, 5,0, 7,0, 9,0, 13,7, 19,0, 26,4, 36,7, 50,9, 70,0 e 98,0%). Para alguns neurônios (34/120; 28% da amostra), onze valores de contraste foram utilizados (0, 1,6, 4,0, 6,3, 10,0, 15,8, 25,0, 39,6, 62,6, 98,0%). Cada *trial* começou com a apresentação de 1 segundo de campo uniforme seguido de 4 segundos de estimulação e finalizado com a apresentação de 2 segundos de campo uniforme gerando um *trial* de 7 segundos. A atividade espontânea foi calculada a partir da taxa de disparo média durante 1 segundo antes do início da apresentação do estímulo e os 4 segundos da estimulação com a condição de contraste igual a zero (para todas as condições e suas repetições).

### 3.3.2.3 Protocolo P3A - Variação do tamanho

Neste protocolo 111 células foram isoladas. Os estímulos utilizados possuíam contraste, direção do movimento, frequências espacial e temporal otimizados de acordo com a preferência da célula (TURCHETTI-MAIA, 2011).

Para esse protocolo foram utilizados quatro conjuntos de estímulos cujos diâmetros variaram de 0,36° a 18° de ângulo visual:

Conjunto 1: (0,48 0,72 1,08 2,04 3 3,6 6 8,99 11,99 e 17,99)

Conjunto 2: (0,36 0,6 0,84 1,2 1,44 1,8 2,04 2,52 3 3,6 4,08 4,56 5,16 5,52 6)

Conjunto 3: (0,36 0,6 0,84 1,2 1,44 1,8 2,04 2,52 3 3,6 4,08 4,56 5,16 5,52 6 8,99)

Conjunto 4: (0,36 0,6 0,84 1,2 1,44 1,8 2,04 2,52 3 3,6 4,08 4,56 5,16 5,52 6 8,99 13,07)

Os conjuntos de estímulo 1, 2, 3 e 4 representam 76, 6, 6 e 12% da amostra total desse protocolo. Foram utilizados dois tempos de apresentação de estímulo, 2 ou 4 segundos. O primeiro foi precedido e seguido da apresentação de 1 segundo de campo uniforme gerando *trials* de 4 segundos. O segundo foi precedido de 1 segundo e seguido de 2 segundo de apresentação de campo uniforme gerando *trials* de 7 segundos. A atividade espontânea foi calculada a partir da taxa de disparo média durante 1 segundo antes do início da apresentação do estímulo (para todas as condições e suas repetições).

### 3.3.2.4 Protocolo P3B - Variação do tamanho e contraste

Neste protocolo 95 células foram isoladas. Os estímulos utilizados possuíam direção do movimento, frequências espacial e temporal otimizadas de acordo com a preferência da célula, variando-se o tamanho juntamente com o contraste.

Para esse protocolo foram utilizados três conjuntos de estímulos cujos diâmetros variaram de 0,36° a 18° de ângulo visual para 10 e 98% de contraste:

Conjunto 1: (0,48 0,72 1,08 2,04 3 3,6 6 8,99 11,99 e 17,99)

Conjunto 2: (0,36 0,6 0,84 1,2 1,44 1,8 2,04 2,52 3 3,6 4,08 4,56 5,16 5,52 6)

Conjunto 3: (0,36 0,6 0,84 1,2 1,44 1,8 2,04 2,52 3 3,6 4,08 4,56 5,16 5,52 6 8,99 13,07)

Os conjuntos de estímulo 1, 2 e 3 representam 68, 11 e 21% da amostra total desse protocolo. Os tempos de apresentação de estímulo foram os mesmos do protocolo 3A.

### 3.3.2.5 Protocolo P4 - Variação da direção

Neste protocolo foram isoladas 76 células sendo que os estímulos utilizados possuíam tamanho, contraste, frequências espacial e temporal otimizados de acordo com a preferência da célula (AMORIM, 2011).

O estímulo utilizado era constituído de grades que se moviam em 16 direções diferentes com um incremento de  $22,5^\circ$  ( $0^\circ$   $22,5^\circ$   $45^\circ$   $67,5^\circ$   $90^\circ$   $112,5^\circ$   $135^\circ$   $157,5^\circ$   $180^\circ$   $202,5^\circ$   $225^\circ$   $247,5^\circ$   $270^\circ$   $292,5^\circ$   $315^\circ$  e  $337,5^\circ$ ) e variavam em três níveis de contraste (10, 30 e 90%). O contraste também foi definido pela equação de Michelson.

Cada *trial* começou com a apresentação de 0,5 segundos de campo uniforme seguido de 2 segundos de estimulação e finalizado com a apresentação de 2 segundos de campo uniforme gerando um *trial* de 4,5 segundos. A atividade espontânea foi calculada a partir da taxa de disparo média durante 0,5 segundos antes do início da apresentação do estímulo (para todas as condições e suas repetições).

## 3.4 Análise dos dados

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

### 3.4.1 Separação dos potenciais de ação (*spike sorting*)

Os registros dos potenciais de ação dos neurônios isolados foram submetidos a um procedimento analítico conhecido como *spike sorting* (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 do Dr. Neuenschwander no Instituto Max-Planck. Esse programa já foi utilizado em vários estudos (LIMA et al., 2010; PINTO; BARON, 2010, 2009; BARON et al., 2007) e baseia-se em um 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 potencias de ação encontradas pelo algoritmo. Para garantir a qualidade da separação, foram utilizados alguns indicadores disponibilizados pelo 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, como foi verificado no histograma de intervalo inter-disparo; e a estabilidade da amplitude e largura do potencial de ação no decorrer do tempo. Foram utilizados nas análises posteriores somente os agrupamentos de potenciais de ação que passaram pelos critérios de qualidade de separação escolhidos.

### 3.4.2 Classificação das células em simples ou complexas

Após o procedimento de separação dos potenciais de ação, a resposta de cada unidade isolada, para cada condição de estímulo, foi convertida em histogramas de tempo peri-estímulo (HTPE) com um bin de 20 ms. Após a remoção da atividade espontânea, os primeiros 200 ms de apresentação do estímulo também foram excluídos com o intuito de eliminar a parte transiente de resposta, estimando assim a faixa de resposta mais estacionária. Com isso, em cada histograma, a atividade média ( $F_0$ ), ou componente DC, foi calculada e a transformada de Fourier aplicada para estimar a amplitude da componente harmônica na frequência temporal do estímulo ( $F_1$ ).

Para a condição de estímulo onde houve maior atividade celular, as células com um índice de modulação ( $F_1/F_0$ ) maior que 1 (modulação significativa em virtude de uma somação espacial linear dentro de seus campos receptores) foram classificadas como simples. Por outro lado, as células com índice de modulação menor que 1 foram classificadas como complexas (significativas não linearidades em suas respostas). Além disso, foi verificado se a resposta máxima de cada célula era estatisticamente maior que a atividade basal, por meio do teste de Wilcoxon. Também foi verificado se as respostas neuronais eram significativamente moduladas pelo estímulo, ou seja, se o neurônio respondia mais para determinadas condições de estimulação que para outras, por meio do teste de Kruskal-Wallis. Apenas as células que satisfizeram ambos os critérios foram incluídas nas análises subsequentes.

### 3.4.3 A técnica de Bootstrap

Para cada condição de estímulo visual foram registrados 10 *trials*. Apesar dessa quantidade de *trials* se mostrar suficiente para descrever o comportamento das células, uma descrição mais robusta seria possível aumentando-se este número. Entretanto devido ao grande número de condições, duração de cada *trial*, necessidade de preservar o bem-estar do animal e o risco de se perder a célula durante o registro, a duração do experimento se torna uma limitação para o aumento do número de *trials*. Dessa forma, a técnica de bootstrap pode ser utilizada, em particular, nos casos onde o número de amostras é reduzido. O objetivo é tentar realizar o que seria desejável na prática, se tal fosse possível: aumentar a amostragem. Tal técnica trata as amostras observadas como se essas representassem exatamente toda a população (CHERNICK, 2008; EFRON; TIBSHIRANI, 1993; CURRAN-EVERETT, 2009). São feitas novas amostragens do conjunto de dados original a fim de se criar réplicas, a partir das quais se pode avaliar a variabilidade dos dados.

A partir de um gerador de números aleatórios, foram selecionadas 10 amostras, com repetição, dentro do conjunto de 10 *trials* iniciais gerando um novo agrupamento. Com isso, para cada condição, criou-se 1000 novos agrupamentos e uma nova taxa de modulação foi calculada para cada agrupamento. A média dos 1000 novos valores de  $F_1/F_0$  foi então calculado como pode ser visto na figura 14.

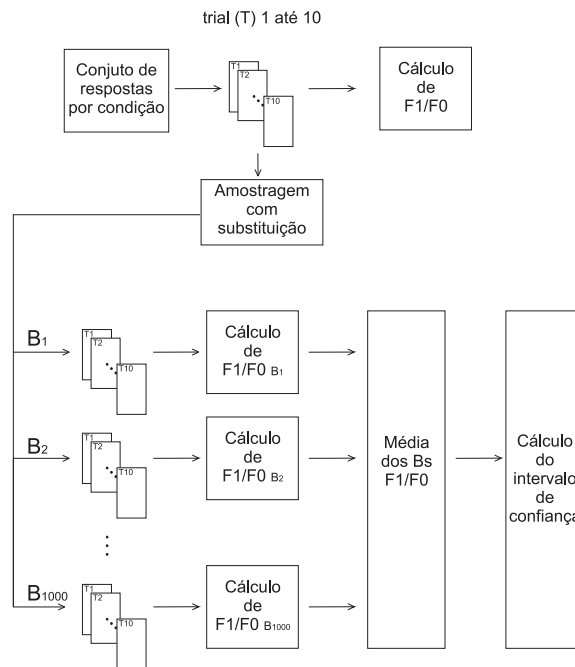


Figura 14: Representação esquemática da técnica de Bootstrap.

Com a ordenação crescente dos 1000 novos valores de modulação para cada condição, o intervalo de confiança a  $(1-2\alpha)100\%$  é dado por  $(F_1/F_{0B_{q_1}}, F_1/F_{0B_{q_2}})$  onde  $q_1$  é  $(B\alpha)$  e  $q_2=B-q_1$  ou simplesmente os percentis de 5 e 95%. Para um  $B=1000$  e  $\alpha=0,05$ ,  $q_1 = 50$  e  $q_2 = 950$ .

### 3.5 Teste F Espectral

Durante o curso deste trabalho, nós descobrimos que a atividade neuronal de várias células classificadas como complexas eram moduladas em graus variados pela fase espacial da grade senoidal utilizada na estimulação. Essa observação nos confrontou com o problema de decidir se essa modulação na resposta era realmente genuína ou somente um produto de flutuações aleatórias no HTPE. Decidiu-se avaliar esse problema por meio de um método de teste de hipótese estatístico no domínio da frequência conhecido como Test F Espectral (TFE) para periodicidade escondida. Esse método tem sido utilizado extensivamente para analisar o regime permanente de potenciais evocados registrados em eletroencefalografias e seu desempenho na detecção da resposta tem sido minuciosamente investigado para esse tipo de dado (ZUREK, 1992; DOBIE; WILSON, 1996). Basicamente, o TFE verifica se a potência da componente de resposta oscilatória é significativamente maior que a potência do ruído. Essa verificação é realizada dividindo a potência da componente espectral na frequência fundamental de estimulação pela potência do ruído local nas imediações dessa frequência (DOBIE; WILSON, 1996, 1993; ZUREK, 1992). A energia do ruído local é estimada pela média de  $M$  componentes espectrais adjacentes à energia do sinal. Matematicamente, o TFE pode ser expresso da seguinte forma:

$$TFE(f) = \frac{|X(f_s)|^2}{\frac{1}{M} \sum_{j=s-\frac{M}{2}}^{s+\frac{M}{2}} |X(f_j)|^2} \text{ para } j \neq s \quad (3.3)$$

Onde:

$X(f_s)$  é o valor da magnitude da FFT do sinal na frequência onde se deseja encontrar a resposta,  $X(f_j)$  é o valor da magnitude da FFT do sinal na  $j$ -ésima componente espectral adjacente à  $f_s$  e  $M$  é o número de componentes espectrais adjacente à  $f_s$  utilizados para estimar a potência do ruído. Não existindo resposta evocada, hipótese nula  $H_0$ , o sinal é considerado gaussiano.

As estimativas das potências do sinal e do ruído são variáveis aleatórias que se aproxi-

mam a uma distribuição Chi-quadrada como demonstrado em Zurek (1992). Na equação 3.3, o numerador possui dois graus de liberdade ( $\chi_2^2$ ) e o denominador, por possuir um somatório de  $M$  variáveis aleatórias com distribuição  $\chi_2^2$ , possui  $2M$  graus de liberdade ( $\chi_{2M}^2$ ). Com isso, o TFE, que é uma razão entre duas distribuições Chi-quadradas, possuirá uma distribuição F de  $(2, 2M)$  graus de liberdade (KAY, 1998).

$$TFE(f)|_{H_0} \sim F(2, 2M) \quad (3.4)$$

O limiar que irá separar as regiões de decisão dependerá também do nível de significância adotado ( $\alpha$ ) sendo definido por:

$$TFE_{crit} = F_{2, 2M, \alpha} \quad (3.5)$$

Com isso, adotando  $M = 6$  e  $\alpha = 0,05$  tem-se um  $TFE_{crit} = 3,8853$ . O teste estatístico para a rejeição da hipótese nula ( $H_0$ ) não fornece detalhes quantitativos acerca da amostra analisada apesar de possibilitar determinar (com um grau de incerteza  $\alpha$ ) se a amostra pertence ou não a uma determinada população.

## 3.6 Métricas para o mapeamento 2D dos campos receptivos

Na presente seção será descrita a metodologia empregada no mapeamento 2D dos campos receptivos. Os registros foram realizados em 4 corujas-buraqueiras (*Athene cucularia*,  $n = 37$ ) acordadas e 2 corujas-suindara (*Tyto alba*,  $n = 25$ ) sedadas totalizando 62 células. Todos os animais foram obtidos por doação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e mantidos com autorização do mesmo órgão (Licença  $n^0$  3106.6995/2012-MG).

### 3.6.1 Estimulação visual no mapeamento dos campos receptivos

Com o objetivo de mapear as subunidades dos campos receptivos foram gerados estímulos visuais que consistiram em dois ruídos bidimensionais. Ambos os estímulos foram grades quadradas (10 x 10 posições) com dimensões de 3,51 x 3,51 graus de ângulo visual apresentadas no centro do campo receptivo previamente identificado no monitor de estimulação como descrito na seção 3.3.1. As grades quadradas de estimulação foram

suficientemente grandes para encobrir todo o campo receptivo.

O primeiro estímulo foi um ruído esparsos (figura 15A) onde foram apresentados de forma randômica quadrados com valor de luminância  $112 \text{ cd/m}^2$  (brancos) ou  $1 \text{ cd/m}^2$  (pretos) em cada uma das possíveis posições da grade  $10 \times 10$ . A luminância de fundo da grade era  $56 \text{ cd/m}^2$ .

O segundo estímulo foi um ruído denso (figura 15B) onde cada posição da grade  $10 \times 10$  poderia assumir um valor de luminância de  $112 \text{ cd/m}^2$ ,  $1 \text{ cd/m}^2$  ou igual à luminância do fundo de tela com probabilidade de ocorrência iguais.

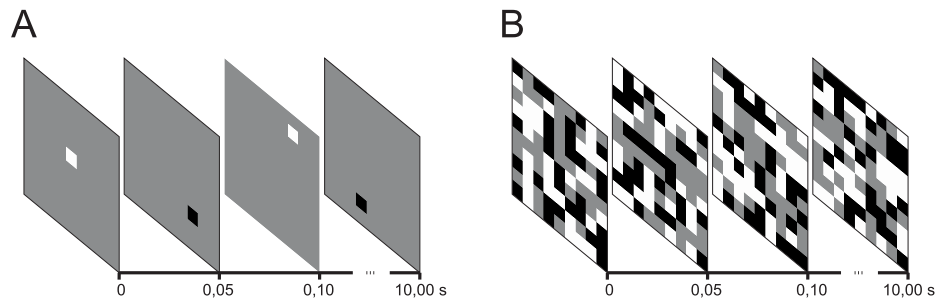


Figura 15: Ruídos bidimensionais utilizados como estímulos visuais no mapeamento das subunidades dos campos receptivos.

Os estímulos foram preparados como sequências de imagens *bitmap* apresentadas durante 50 ms (5 *frames* a uma taxa de atualização de 100 Hz do monitor) com grande precisão temporal (ActiveStim - [www.activestim.com](http://www.activestim.com)). Essa precisão temporal é fundamental para esses estímulos e foi constantemente verificada utilizando um dispositivo que capta mudanças de intensidade luminosa do monitor por meio de um foto transistor.

Para ambos os protocolos de estimulação (ruído esparsos e denso) a duração total de cada sequência foi de 10 segundos e os protocolos foram apresentados em blocos de 30 sequências distintas. O número de sequências se justifica porque durante o registro alguma perda de quadro durante a estimulação poderia ocorrer e nos experimentos realizados com corujas buraqueiras as mesmas se encontravam acordadas podendo piscar. Desta forma a retirada dessas condições é importante pois a perda de um quadro faria com que a ocorrência de um potencial de ação ficasse correlacionado de forma errônea no tempo em relação ao estímulo apresentado naquele instante e existem indícios da variação da taxa de disparo dos neurônios durante a piscada da coruja (VIEIRA, 2014).

### 3.6.2 Construção dos mapas

A correlação reversa entre os potenciais de ação e o estímulo apresentado foi calculada separadamente para cada atraso de tempo  $\tau$  (equação 1.2) e sub-região *ON* e *OFF* (JONES; PALMER, 1987). As médias e variâncias dos mapas *ON* e *OFF* para  $\tau = 0$  foram calculadas com o objetivo de realizar uma normalização (z-score) nos mapas com  $\tau \neq 0$ . Dessa forma, a referência de variabilidade da atividade celular será a atividade espontânea  $\tau = 0$ . O nível de significância escolhido foi um z-score = 2,5 ( $p < 0,02$ , hipótese bicaudal). Sendo assim, somente as posições com atividade estatisticamente significativa e suas respectivas posições adjacentes foram levadas em consideração na construção final dos mapas. Cada mapa resultante foi então suavizado aplicando-se uma interpolação spline cúbica com 5 pontos.

Os mapas podem conter valores positivos ou negativos. Regiões positivas nos mapas *ON* indicam a localização dentro do campo receptivo onde ao se aplicar um ponto de alta luminância (branco) é possível induzir um aumento significativo na taxa de disparo do neurônio acima da atividade espontânea. Por outro lado, regiões negativas nos mapas *ON* indicam as localizações dentro do campo receptivo onde ao se aplicar um ponto de alta luminância é possível induzir uma diminuição significativa na taxa de disparo do neurônio. Uma descrição similar se aplica aos mapas *OFF*.

Como descrito anteriormente, foram retiradas as repetições onde ocorreram perdas de *frame* ou alguma piscada do animal. Com isso era necessário definir um número mínimo de repetições a ser adotado na construção dos mapas dos campos receptivos. Inicialmente foi encontrado em qual atraso de tempo ocorria a maior taxa de disparo para os mapas *ON* e *OFF* utilizando-se o número máximo de repetições para aquele protocolo. O mapa *ON* ou *OFF* que possuía a maior taxa de disparo era então escolhido como referência. Em seguida uma sequência de mapas foi construída variando-se o número de repetições até o máximo menos um. O coeficiente de correlação entre cada novo mapa e o mapa que possuía o número máximo de repetições era então calculado. A figura 16 mostra a evolução do coeficiente de correlação para os diversos números de repetições na construção dos mapas com seus respectivos erros padrões médios ( $n = 62$ ).

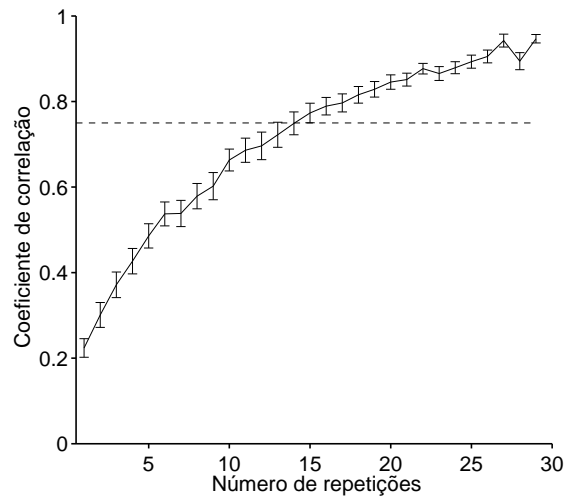


Figura 16: Correlações entre os diversos números de repetições e o número máximo de repetições. A linha tracejada indica uma correlação de 75%.

Como pode ser verificado na figura 16, à partir de 15 repetições o coeficiente de correlação entre o número de repetições e o número máximo de repetições utilizado na construção do mapa ultrapassa 75%. Desta forma, neste estudo, foram utilizados somente os protocolos em que um mínimo de 15 repetições pudessem ser aproveitadas.

### 3.6.3 Métricas de quantificação da sobreposição espacial entre as subunidades do campo receptivo

Com o objetivo de verificar a consistência da sobreposição espacial entre as subunidades *ON* e *OFF* neste trabalho foram escolhidas quatro métricas diferentes para esta análise. Essas métricas são complementares (MATA; RINGACH, 2005) e serão comparadas entre si e em relação à taxa de modulação por meio de correlações. Para as métricas que serão apresentadas a seguir os mapas das subunidades *ON* e *OFF* serão denominados  $m_{on}$  e  $m_{off}$ .

A primeira métrica, proposta por Dean e Tolhurst (1983), foi utilizada para a distinção entre células simples e complexas no córtex visual de gatos. Essa medida será denominada  $\alpha$  e pode ser matematicamente descrita pela equação 3.6 (DEAN; TOLHURST, 1983).

$$\alpha = \frac{\sum_i |m_{on}(i) - m_{off}(i)|}{\sum_i |m_{on}(i)| + \sum_i |m_{off}(i)|} \quad (3.6)$$

Na equação acima,  $i$  representa cada posição dentro da grade 10 x 10 de estimulação.

Para uma célula complexa espera-se que exista uma grande independência à polaridade do contraste gerando mapas  $m_{on} \approx m_{off}$  e conseqüentemente  $\alpha = 0$ . Por outro lado uma célula simples apresentará respostas antagônicas para barras brancas e pretas,  $m_{on} \approx -m_{off}$  (HIRSCH, 2003), desta forma  $\alpha = 1$ .

A segunda métrica é o cálculo do coeficiente de correlação entre os mapas  $m_{on}$  e  $m_{off}$ . Os mapas espaciais são considerados como vetores sendo a norma de cada vetor descrita como  $\|m\| = \sqrt{\langle m, m \rangle}$  e o produto interno entre dois vetores como  $\langle m_{on}, m_{off} \rangle$ . Desta forma o coeficiente de correlação pode ser calculado pela equação 3.7.

$$\rho = \frac{\langle m_{on}, m_{off} \rangle}{\|m_{on}\| \|m_{off}\|} \quad (3.7)$$

Nas células complexas os mapas  $m_{on}$  e  $m_{off}$  possuirão formas similares se localizados na mesma região espacial,  $\rho \approx 1$ . Contudo, nas células simples os mapas não estarão correlacionados espacialmente e portanto  $\rho \approx 0$ .

As próximas duas métricas foram realizadas à partir de um corte unidimensional nos mapas  $m_{on}$  e  $m_{off}$  passando pelo centro de massa de ambas subunidades. Esses cortes serão definidos por  $c_{on}$  e  $c_{off}$ .

A terceira métrica é a distância normalizada entre as subunidades *ON* e *OFF*. A normalização é realizada à partir da relação entre a separação dos centros de massa das subunidades e a raiz quadrada média de suas respectivas áreas. Essa distância normalizada será denominada  $\beta$  e pode ser calculada de acordo com a equação 3.8.

$$\beta = \frac{|\overline{c_{on}} - \overline{c_{off}}|}{\frac{1}{2}(\sqrt{A(c_{on})} + \sqrt{A(c_{off})})} \quad (3.8)$$

Na equação 3.8  $\overline{c_{on}}$  é a localização do centro de massa da subunidade *ON* e  $A(c_{on})$  é a sua área. O mesmo se aplica para a subunidade *OFF*,  $\overline{c_{off}}$  e  $A(c_{off})$ . A distância entre os centros de massa das subunidades é descrito como  $|\overline{c_{on}} - \overline{c_{off}}|$ . Dessa forma o cálculo da distância entre as subunidades é normalizado pelos respectivos tamanhos médios de cada curva. É esperado que as células complexas tivessem pouca separação entre os centros de massas em relação às suas áreas, resultando em um  $\beta \approx 0$ . Já nas células simples é esperada uma grande separação entre os centros de massas em relação às suas áreas obtendo um  $\beta \gg 0$ .

Para o cálculo da última métrica, um ajuste é realizado nos cortes unidimensionais os aproximando à gaussianas,  $g_{on}$  e  $g_{off}$ . Essas gaussianas poderão possuir localizações



médias diferentes ( $m_{on}$  e  $m_{off}$ ) com seus respectivos desvios padrões representados pelas suas larguras  $\gamma_{on}$  e  $\gamma_{off}$ . O índice de sobreposição é então calculado segundo a equação 3.9 (SCHILLER; FINLAY; VOLMAN, 1976) (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002) (MARTINEZ et al., 2005) (VEIT et al., 2013).

$$\lambda = \frac{(\gamma_{on} + \gamma_{off}) - |m_{on} - m_{off}|}{(\gamma_{on} + \gamma_{off}) + |m_{on} - m_{off}|} \quad (3.9)$$

Para células complexas onde a separação espacial é relativamente pequena em relação à sua largura, é de se esperar um  $\lambda \approx 1$ . Por outro lado para as células simples espera-se uma separação maior em relação à largura de suas gaussianas encontrando  $\lambda \approx 0$  ou  $\lambda < 0$ .

## 4 *Distribuição da linearidade da somação espacial no wulst visual da coruja buraqueira*

### 4.1 Introdução

Nos primeiros trabalhos onde a linearidade da resposta neuronal era realizada quantitativamente pelo método descrito na sessão 3.4.2 as distribuições das modulações das respostas evocadas encontradas eram bimodais (DEVALOIS; ALBRECHT; THORELL, 1982; SKOTTUN et al., 1991). Essa bimodalidade era então associada à existência de duas classes distintas de células em V1, células simples e complexas. Entretanto a suposição de que essa bimodal representa duas classes celulares já vem sendo questionada por vários pesquisadores (CROWDER et al., 2007; PRIEBE et al., 2004; ABBOTT; CHANCE, 2002; MECHLER; RINGACH, 2002; CARANDINI; FERSTER, 2000; CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999). Segundo Priebe e colaboradores (2004), a distribuição bimodal refletiria a existência de uma interação não linear entre o potencial de membrana e o limiar do potencial de ação (ponto que será discutido nas sessões seguintes). Por outro lado, alguns estudos relatam uma unimodalidade em suas distribuições (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002; MATA; RINGACH, 2005; ROMO et al., 2011), provavelmente devido à desproporcionalidade relativa entre as classes celulares: 14% de células simples em (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002) e 80% de células simples em (ROMO et al., 2011). Como será detalhado a seguir, este capítulo tem por objetivo principal fornecer uma estimativa quantitativa do grau de linearidade nas respostas das células do wulst visual da coruja à partir da estimulação visual com grades senoidais otimizadas em relação à orientação, frequência temporal e espacial, contraste e tamanho (ver Materiais e Métodos sessão 3.3.2).

## 4.2 Resultados

Os resultados apresentados nesta seção e na seção 5 foram baseados em registros extracelulares realizados no wulst visual de corujas acordadas e com cabeça passivamente fixada. A base de dados utilizada consiste em 369 neurônios bem isolados, os quais foram aleatoriamente amostrados em diferentes profundidades da porção do wulst visual dedicada à representação do campo visual central.

### 4.2.1 Verificação da utilização do Bootstrap

Inicialmente foi verificado se a utilização de dez *trials* e a técnica de Bootstrap geravam distribuições diferentes na classificação das células de nossa amostra. Para analisar a correlação entre os valores das linearidades da somação espacial ( $F_1/F_0$ ) calculados pela técnica de Bootstrap e calculados com os 10 *trials*, aplicou-se o teste de Lilliefors nas distribuições verificando que ambas não eram normais. A partir disso, aplicou-se a correlação linear não paramétrica por meio do teste de Spearman encontrando um  $\rho = 0,9483$  e  $p \ll 0,001$  indicando a alta correlação entre as distribuições. Somente em 1% (4/369) das ocasiões os valores de  $F_1/F_0$  encontrados utilizando os dois procedimentos divergiram quanto à classificação das células. Nessas ocasiões, o método de Bootstrap classificou as células como simples enquanto a utilização de somente dez *trials* as classificou como complexas. A figura 17 apresenta um gráfico de dispersão das distribuições de  $F_1/F_0$  calculados com e sem a técnica de Bootstrap para as 369 células.

O procedimento de Bootstrap foi aplicado com o objetivo de estimar intervalos de confiança nos valores de  $F_1/F_0$ , entretanto, apesar de reduzido (dez), o número de *trials* escolhido mostrou-se suficiente para caracterizar as linearidades da somação espacial. A figura 18 mostra os valores medianos de modulação encontrados pelo método de Bootstrap organizados em ordem decrescente juntamente com seus respectivos intervalos de confiança para as 369 células. Como pode ser visto, a grande maioria das células (307/369, 83,20%) foi classificada como complexa, enquanto apenas 16,80% (62/369) foram classificadas como simples.

Alguns intervalos de confiança apresentados na figura 18 possuem o limite superior elevado ou o limite inferior negativo devido à subtração da atividade espontânea na resposta analisada. Isso ocorreu principalmente nas células em que a atividade média evocada ficava abaixo de 5 disparos por segundo em algum dos dez *trials*. A retirada da atividade espontânea foi realizada com o objetivo de detectar especificamente a presença da mod-

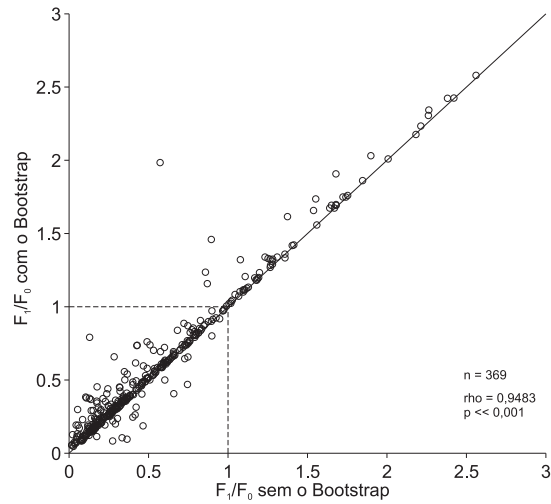


Figura 17: Correlação entre os valores médios da linearidade da somação espacial. A linha contínua corresponde a  $x=y$ , e as linhas tracejadas representam os limiares entre as classificações na modulação da resposta; rho, coeficiente de correlação para o teste de Spearman,  $n=369$ .

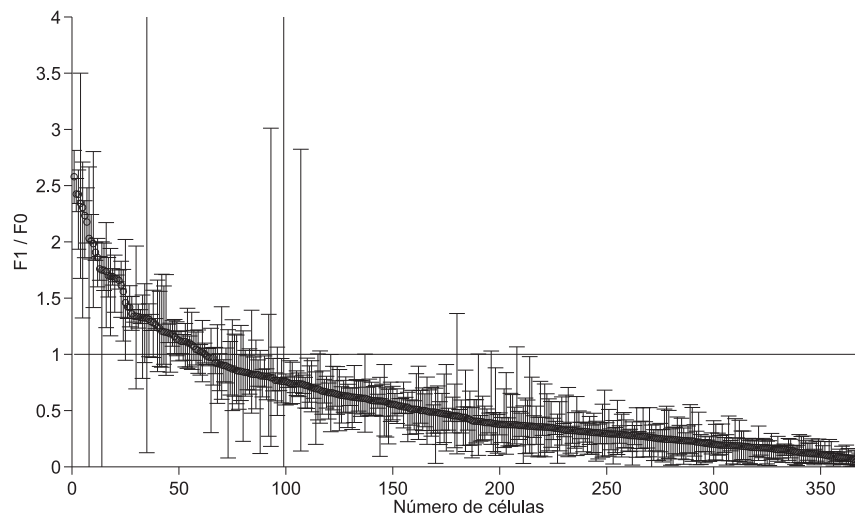


Figura 18: Organização em ordem decrescente dos índices de modulação calculados pelo Bootstrap e seus respectivos intervalos de confiança. A linha horizontal em  $F_1/F_0 = 1$  indica o limiar de classificação entre as células simples e complexas.

ulação pela frequência temporal do estímulo. Nessas ocasiões, os valores de  $F_0$  ficaram próximos de zero ou negativos, gerando modulações altas ou negativas, respectivamente.

## 4.2.2 Caracterização da linearidade da somação espacial da resposta

Os histogramas de tempo peri-estímulo (HTPE) são histogramas utilizados para visualizar a taxa de disparo e os instantes de ocorrência desses disparos de um determinado neurônio em relação aos estímulos visuais apresentados. A aplicação da Transformada de Fourier para quantificar a componente fásica ( $F_1$ ) e a atividade média ( $F_0$ ) à partir de um HTPE é geralmente realizada com o objetivo de classificar como “simples” ou “complexas” as células visualmente estimuláveis (MOVSHON; THOMPSON; TOLHURST, 1978; SKOTTUN et al., 1991). As células simples possuem respostas evocadas altamente dependentes da fase do estímulo e por isso apresentam um HTPE com a forma de uma senoide retificada em fase com a frequência temporal do estímulo. Dessa forma, sua componente  $F_1$  será sempre maior que sua atividade média. Por outro lado, as células complexas possuem respostas evocadas independentes da fase do estímulo gerando um HTPE com a forma de onda se assemelhando a um degrau. Essa forma de onda resulta em uma amplitude menor de  $F_1$  quando comparada com  $F_0$ . Contudo, células complexas também podem apresentar componentes oscilatórias dependentes do estímulo, ou seja, sensíveis à fase (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002; HIETANEN et al., 2013). Essa sensibilidade é evidenciada por um aumento na amplitude de  $F_1$ . Assim, primeiramente foi verificado se células do wulst visual classificadas como complexas apresentavam componentes oscilatórias (em fase com o estímulo) estatisticamente significativas aplicando o teste estatístico F espectral (ver Materiais e Métodos).

A figura 19 mostra três exemplos representativos de nossa amostra. O primeiro exemplo é uma célula simples (Fig. 19A-C) que apresenta uma preferência para uma grade senoidal orientada horizontalmente aliada a uma pronunciada preferência direcional de  $247.5^\circ$  (Fig. 19A). Como classicamente demonstrado em mamíferos, esse tipo de célula possui em sua resposta uma modulação fásica bem característica acarretando em padrões de disparos que se assemelham a uma senoide retificada (Fig. 19B). Esse comportamento é esperado para um neurônio que possui uma segregação espacial nas subunidades excitatórias e inibitórias que formam seu campo receptivo. Portanto, aplicando-se a transformada de Fourier (Fig. 19C) em seu HTPE encontrou-se uma amplitude maior na frequência temporal de estimulação do estímulo ( $F_1$ ) que em sua componente contínua (atividade média -  $F_0$ ) gerando um índice de modulação ( $F_1/F_0$ ) maior que um. Devido a essa característica, as células classificadas como simples sempre apresentaram um valor significativo de  $F_1$  acima do ruído, como determinado pelo teste F espectral.

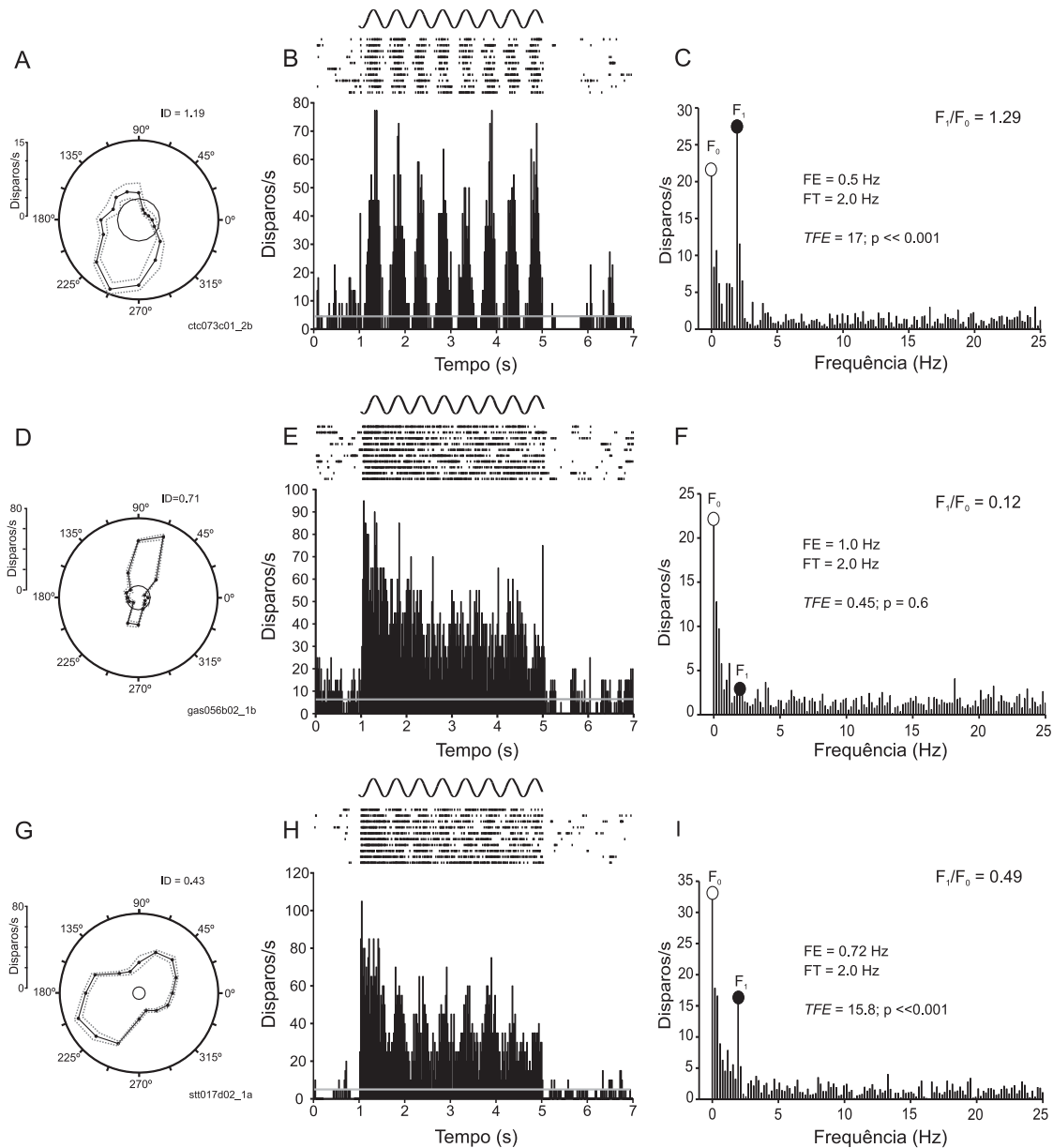


Figura 19: Exemplos representativos de uma célula simples (A-C) e duas células complexa (D-F e G-I). À esquerda de cada exemplo (A, D e G) encontram os respectivos gráficos polares com as preferências direcionais de cada célula. A cima de cada HTPE encontram-se seus respectivos *raster plot*. Os estímulos foram apresentados um segundo após o início dos registros e tiveram a duração de quatro segundos como pode ser visto pela representação esquemática da frequência temporal do estímulo a cima de cada *raster plot*. A linha cinza nos HTPE representa as respectivas atividades espontâneas. As células foram estimuladas com uma grade senoidal com frequência temporal de 2 Hz. Nas Transformadas de Fourier de cada HTPE (C, F e I) estão indicados os pontos  $F_0$  e  $F_1$  juntamente com os respectivos valores do índice de modulação, frequência espacial (FE), frequência temporal (FT) e Teste F espectral.

O segundo exemplo é uma célula complexa (Fig. 19D-F) que também apresenta uma clara preferência para uma grade de orientação praticamente horizontal, mas com uma

preferência direcional para  $67,5^\circ$  (Fig. 19D). Essa célula não possui resposta fásica com o estímulo aplicado e conseqüentemente seu HTPE não apresenta oscilações características da componente fundamental do estímulo (Fig. 19E). Tal fato é comprovado pela amplitude de  $F_1$  encontrada na aplicação da Transformada de Fourier em seu HTPE. Para essa classe de células o índice de modulação sempre é menor do que um e não é possível detectar uma componente fásica significativa acima do ruído.

O último exemplo é uma célula complexa (Fig. 19G-I) com clara preferência em sua orientação, mas preferência bi-direcional para  $45,0^\circ$  e  $202,5^\circ$  (Fig. 19G). Apesar de não tão pronunciando como uma resposta típica de uma célula simples, analisando seu HTPE (Fig. 19H) é possível perceber uma modulação em fase com a componente fundamental do estímulo. Essa modulação é comprovada pela amplitude de  $F_1$  em seu espectro de frequência (Fig. 19I) e pela detecção dessa componente ao se aplicar o teste F espectral. Para essa classe de células, apesar do índice de modulação sempre ser menor do que um é possível detectar uma componente fásica significativa acima do ruído.

Dessa forma, as células complexas que possuem uma componente fásica estatisticamente significativa serão denominadas complexas<sup>F1</sup> e as que não possuem essa componente fásica serão denominadas simplesmente de complexas.

### 4.2.3 Distribuição da linearidade da somação espacial

A frequência de distribuição de  $F_1/F_0$  da população foi gerada para cada categoria funcional de células como pode se visto pela figura 20. A principal característica neuronal amostrada na distribuição desses índices foi a prevalência das células complexas (53,92% - 199/369) com valores deslocados para o lado não linear (barras pretas; mediana = 0,29 [0,18 - 0,40]), enquanto que as células do tipo complex<sup>F1</sup> (29,26% - 108/369) apresentaram uma gama de valores um pouco mais larga (barras cinzas; mediana = 0,61 [0,39 - 0,75]) aproximando-se do lado linear. Esse aumento no índice de modulação para as células complex<sup>F1</sup> é esperado devido à presença de uma componente fásica ( $F_1$ ) significativa (Teste F espectral,  $p < 0,05$ ). Por outro lado, as células simples, que representam aproximadamente 1/6 de toda a amostra (16,80% - 62/369), apresentam uma esparsa distribuição dos índices de modulação com todos os valores acima de um (barras brancas; mediana = 1,33 [1,18 - 1,73]).

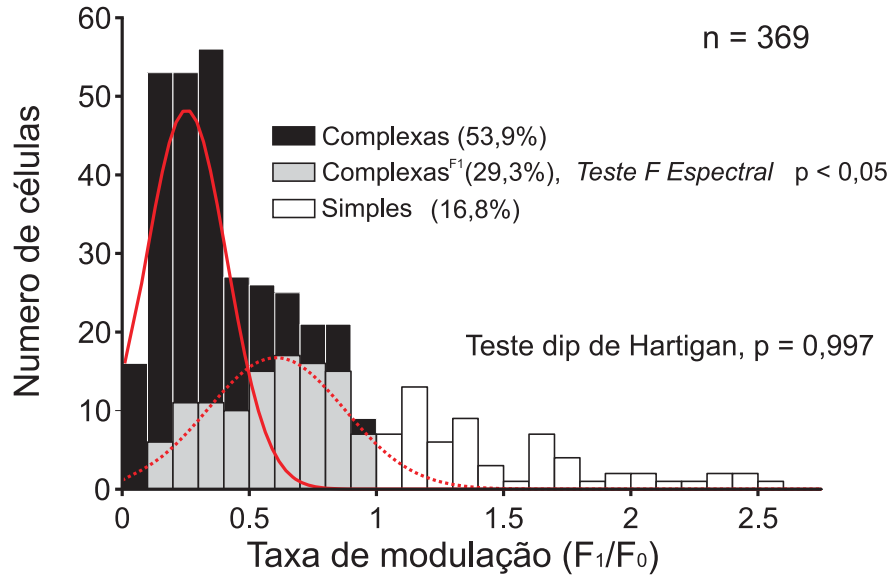


Figura 20: Histograma da distribuição do índice de modulação ( $n = 369$ ). A gaussiana em linha pontilhada é o ajuste da distribuição do grupo de células complexas que possuem uma componente fásica estatisticamente significativa e a gaussiana em linha contínua é o ajuste do grupo células complexas que não possuem sensibilidade fásica ao estímulo.

Analisando o histograma da figura 20 como um todo, é perceptível que as características apresentadas acima implicam em uma distribuição unimodal, com um pico a baixos valores de  $F_1/F_0$ . De fato, a hipótese nula de unimodalidade não pode ser rejeitada como indicado pelo teste de unimodalidade de Hartigan ((HARTIGAN; HARTIGAN, 1985; HARTIGAN, 1985);  $p = 0,99$ ), mesmo se forem realizados novos testes excluindo qualquer um dos grupos não lineares (complexa ou complexa<sup>F1</sup>). Esse resultado é diferente do que é comumente relatado em estudos com primatas e carnívoros, os quais indicam a prevalência de uma distribuição bimodal (ROMO et al., 2011; CHEN et al., 2009; BARDY et al., 2006).

Para verificar a robustez dos resultados populacionais apresentados acima, a distribuição da linearidade da somação espacial foi reavaliada por meio de um método alternativo proposto por DeValois e colaboradores (1982). Esse método foi desenvolvido para controlar um viés que pode ser potencialmente introduzido quando o grau de linearidade da resposta é avaliado em somente uma frequência espacial. Na análise acima, foi escolhida, como frequência ideal, a frequência que provocou a maior resposta de  $F_0$ . Isso é, de fato, o que a maioria dos estudos desenvolvidos no córtex fazem e, por isso, foi adotado o termo “método convencional” quando tal procedimento for referenciado no restante do texto. No entanto, se a frequência espacial ideal escolhida não corresponde à frequência que melhor estimula a componente fásica ( $F_1$ ) do neurônio, um menor valor de  $F_1/F_0$  será



estimado para essa célula.

Para minimizar esse viés, DeValois e colaboradores (1982) propuseram o cálculo de uma estimativa combinada de  $F_1/F_0$  computando, primeiramente, as resposta de  $F_1$  e  $F_0$  para grades senoidais com frequências espaciais distintas. Para cada condição, os valores de  $F_1$  e  $F_0$  são somados e as três frequências que geram os maiores resultados são selecionadas. O índice de modulação é então estimado utilizando o valor médio de  $F_1$  e  $F_0$  derivados das condições selecionadas (DEVALOIS; ALBRECHT; THORELL, 1982; DEVALOIS; THORELL; ALBRECHT, 1985). Tal análise foi conduzida para um subconjunto de nossa amostra (103/369) e todas as células desse subconjunto foram quantitativamente avaliadas com seis frequências espaciais diferentes, escolhidas para cobrir todas as suas variações passa-faixa (ver Materiais e Métodos - seção 3.3.2.1). A atividade espontânea foi subtraída dos três  $F_0$  selecionados antes de calcular a razão conjunta de  $(F_1/F_0)$ . Para classificar as células como complexa<sup>F1</sup>, o TFE foi aplicado utilizando o espectro de frequência obtido após a promediação dos três espectros de frequência associados às condições de estimulação selecionadas. A figura 21 compara a distribuição das razões de  $F_1/F_0$  calculada pelo método convencional (Fig. 21A) com a gerada pelo método proposto por DeValois e colaboradores (Fig. 21B).

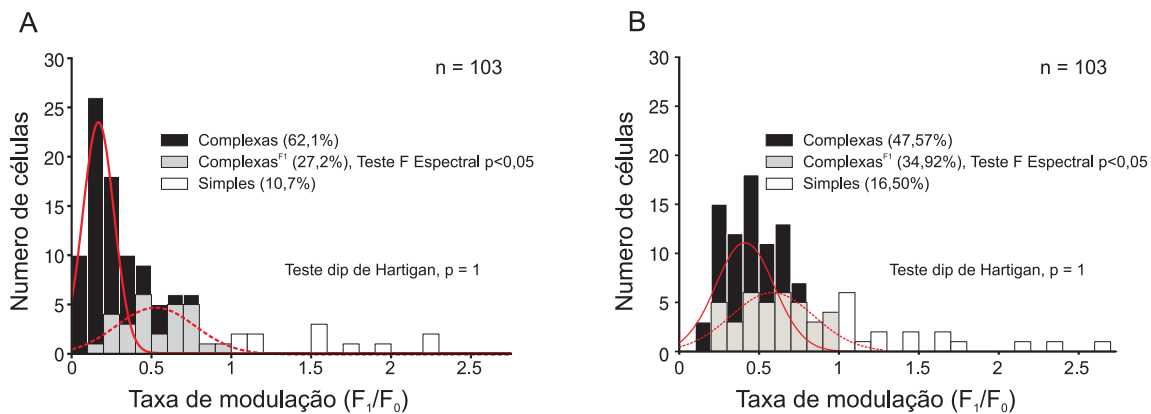


Figura 21: Histograma das distribuições das modulações das respostas calculado pelo método clássico (A) e pelo método de DeValois (B). As gaussianas em linha pontilhada são os ajustes das distribuições dos grupos de células complexas que possuem uma componente fásica estatisticamente significativa e as gaussianas em linha contínua são os ajustes dos grupos de células complexas que não possuem sensibilidade fásica ao estímulo.

No geral, as duas distribuições não diferem pronunciadamente, com ambas mostrando um claro perfil unimodal ( $p = 0,99$ ; teste de unimodalidade de Hartigan). A única mudança estatisticamente significativa engendrada pelo método de DeValois e colaboradores foi um pequeno deslocamento da população de células complexas não sensíveis à fase em

direção ao lado linear. Para esse grupo, a diferença entre os índices de linearidade da somação espacial medianos foi de 0,25 ( $p < 0,05$ ; teste Wilcoxon Rank-Sum). Entretanto, esse efeito de linearização não foi suficientemente pronunciado para modificar significativamente a quantidade de células distribuídas dentro de cada grupo ( $X^2$ ,  $DoF = 2$ ,  $p = 0,104$ ). Portanto foi possível concluir que a não correspondência na preferência das frequências espaciais de  $F_1$  e  $F_0$ , quando existe, não é suficientemente grande ao nível do wulst visual a ponto de invalidar os cálculos da linearidade da resposta utilizando o método convencional.

#### 4.2.4 Relação entre $F_0$ e $F_1/F_0$

A relação entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$  foi avaliada como uma forma de aumentar a compreensão sobre os mecanismos celulares e/ou da rede responsáveis pelo surgimento do tipo de distribuição (unimodal) encontrada para os índices de linearidade da somação espacial. Como mostrado por Chen e colaboradores (2009), uma forte correlação linear negativa entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$  de fato existe, se for assumido que o mecanismo de geração do potencial de ação é governado por uma função de potência do seguinte tipo:  $R(V_m) = k[V_m - V_{rest}]_+^p$ , onde  $V_m$  corresponde ao potencial de membrana da célula e  $V_{rest}$  ao potencial de membrana no repouso medido sem estimulação (tela homogênea de luminância igual à luminância média do estímulo utilizado). Os parâmetros  $k$  e  $p$  são o fator de ganho e o expoente da função de potência, respectivamente. O subscrito “+” indica uma retificação (ou seja, valores negativos são substituídos por zero (PRIEBE et al., 2004)). Priebe e colaboradores (2004) demonstraram que essa função de potencia é, na verdade, adequada para descrever a transformação não linear de  $V_m$  para o potencial de ação exibida pelos neurônios do córtex visual primário de gatos anestesiados. Eles também encontraram que a distribuição dos índices de linearidade da somação espacial estimados em um nível sublimiar ( $V_1/V_0$ ) foi claramente unimodal e muito deslocada em direção a baixos valores, condição *sine qua non* para a geração, ao nível do potencial de ação, de uma distribuição bimodal de  $F_1/F_0$ , a qual Priebe e colaboradores (2004) encontraram pela transformação de  $V_m$  para o potencial de ação baseando-se em uma lei de potência. Esses achados experimentais confirmaram o que Mecheler e Ringach (2002) presumiram teoricamente e demonstram que a bimodalidade de  $F_1/F_0$  surge meramente devido a uma não linearidade expansiva que regula biofisicamente o limiar para a geração do potencial de ação no córtex. Baseado na premissa de que uma forte correlação negativa entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$  fornece um indicador válido, entretanto indireto, de tal fenômeno, um coeficiente de correlação igual ou próximo de zero pode ser razoavelmente interpretado como uma evidência da falta da não linearidade expansiva

pronunciada na transformação de  $V_m$  para o potencial de ação e isso seria equivalente a  $p$  ser igual, ou próximo, de 1 no modelo de limiarização baseado na lei de potencia adotada por Priebe e colaboradores (2004).

Tentando encontrar alguma relação entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$ , a correlação entre essas variáveis foi calculada para nossa amostra. A figura 22 mostra o gráfico de  $F_0$  em função de  $F_1/F_0$ .

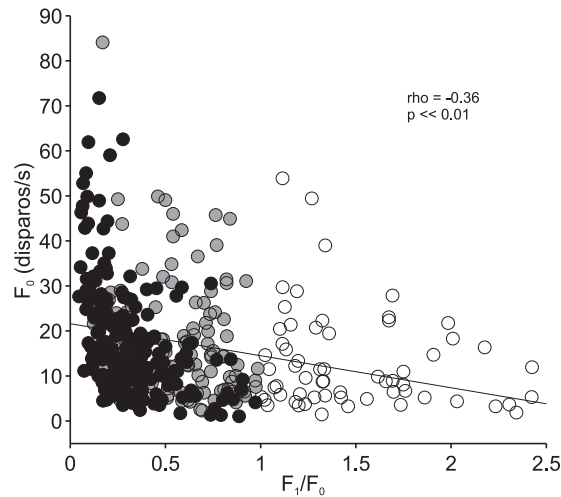


Figura 22: Relação entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$ . As marcações em preto, cinza e branco são as representações para o grupo de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. A linha preta é o ajuste linear entre as variáveis  $F_0$  e  $F_1/F_0$ .

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa e inversamente proporcional entre  $F_0$  e  $F_1/F_0$  para a nossa população de células ( $\rho = -0,36$ ,  $p < 0,01$ ; coeficiente de correlação de Spearman). A baixa correlação encontrada pode ser o reflexo de uma transformação mais linear do potencial de membrana para o potencial de ação ocorrendo nos neurônios do wulst visual da coruja. Esse fato também foi verificado tentando-se aplicar a lei de potência descrita por Priebe e colaboradores (2004) por meio de um ajuste exponencial entre as variáveis  $F_0$  e  $F_1/F_0$ . Contudo, para os nossos dados, esse ajuste se mostrou ineficiente ( $R^2 = 0,17$ ).

#### 4.2.5 A atividade espontânea e linearidade da resposta

A atividade espontânea é definida como a taxa de disparo do neurônio na ausência de estímulos. Vários estudos teóricos de modelagem sugerem que a linearidade da resposta de uma célula cortical depende criticamente do balanço relativo entre entradas sinápticas excitatórias e inibitórias (TAO et al., 2004; WIELAARD et al., 2001) e pode ser reduzida apenas através do recrutamento de conexões recorrentes excitatórias dentro da rede cortical

(CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999). Portanto, quando o balanço das entradas sinápticas tende para a inibição, um perfil de resposta neuronal mais linear emerge. Por outro lado, quando a excitação sináptica é prevalente, a não linearidade é mantida. Partindo da premissa de que o nível de disparo médio da atividade espontânea é um indicativo da eficaz composição da polaridade das sinapses das células do wulst visual, decidiu-se tentar encontrar alguma relação entre a atividade espontânea e a linearidade da resposta.

No córtex visual primário, trabalhos experimentais têm consistentemente relatado que células simples apresentam níveis mais baixos de atividade espontânea que as células complexas (SCHILLER; FINLAY; VOLMAN, 1976; GILBERT, 1977; RINGACH, 2002; IBBOTSON; PRICE; CROWDER, 2005; CROWDER et al., 2007; ROMO et al., 2011). Como mostrado na figura 23A, nossas análises revelaram que, no wulst visual da coruja, células classificadas como simples baseando-se nos valores de  $F_1/F_0$  possuem uma atividades espontânea (mediana = 3,44 disparos/s [1,50 - 7,49]) levemente menor que as células complexas<sup>F1</sup> (mediana = 3,82 disparos/s [2,11 - 7,86]) e complexas (mediana = 4,48 disparos/s [2,03 - 7,77]). Contudo, essa pequena diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,37$ ; teste Kruskal-Wallis).

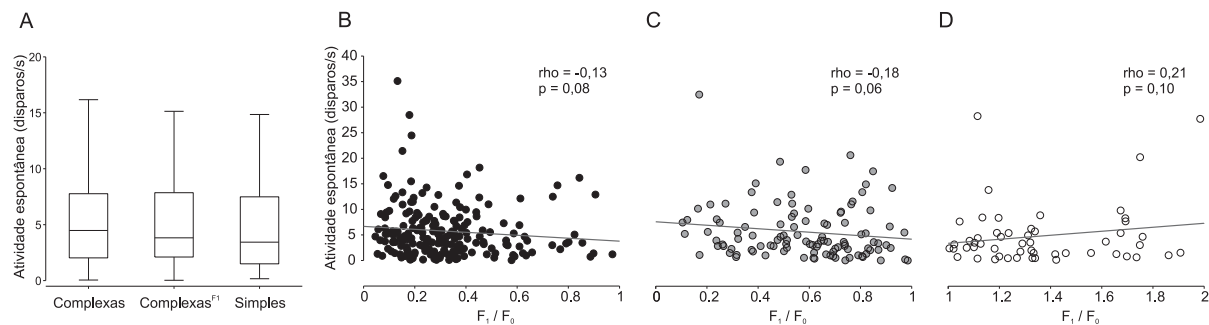


Figura 23: Relação entre a atividade espontânea e  $F_1/F_0$ . Em A é apresentada as distribuições das atividades espontâneas para cada grupo celular de nossa amostra. As barras indicam suas respectivas medianas, 25<sup>o</sup> e 75<sup>o</sup> percentis. Em B, C e D são mostradas as relações entre a atividade espontânea e o índice de linearidade da somação espacial para os grupos de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. As linhas em B-D são os ajustes lineares entre as variáveis e os valores de  $\rho$  e  $p$  referem-se às correlações realizadas.

Seguindo a mesma tendência do resultado anterior, não foram encontradas relações significativas entre os valores de  $F_1/F_0$  e a atividade espontânea para todos os grupos celulares (figura 23B-D) (coeficiente de correlação linear para o teste de Spearman), apesar de uma fraca tendência a uma correlação negativa ser observada para os grupos de células complexas<sup>F1</sup> e complexas. Uma comparação entre os intervalos interquartis das atividades espontâneas médias entre os diferentes grupos celulares indica um padrão de similaridade

global entre as dispersões. Essa similaridade reforça a principal conclusão dessa análise: no wulst visual das corujas buraqueiras, a atividade espontânea não é um bom preditor de linearidade da resposta neuronal.

Foi feita uma correlação linear entre a atividade espontânea e a atividade média das células com o objetivo de tentar encontrar alguma relação entre ambas. Como pode ser visto pela figura 24, a atividade espontânea é diretamente proporcional à atividade média dos neurônios (coeficiente de correlação linear para o teste de Spearman: células complexas:  $\rho = 0,44$  e  $p \ll 0,01$ ; células complexas<sup>F1</sup>:  $\rho = 0,57$  e  $p \ll 0,01$  e células simples:  $\rho = 0,43$  e  $p \ll 0,01$ ).

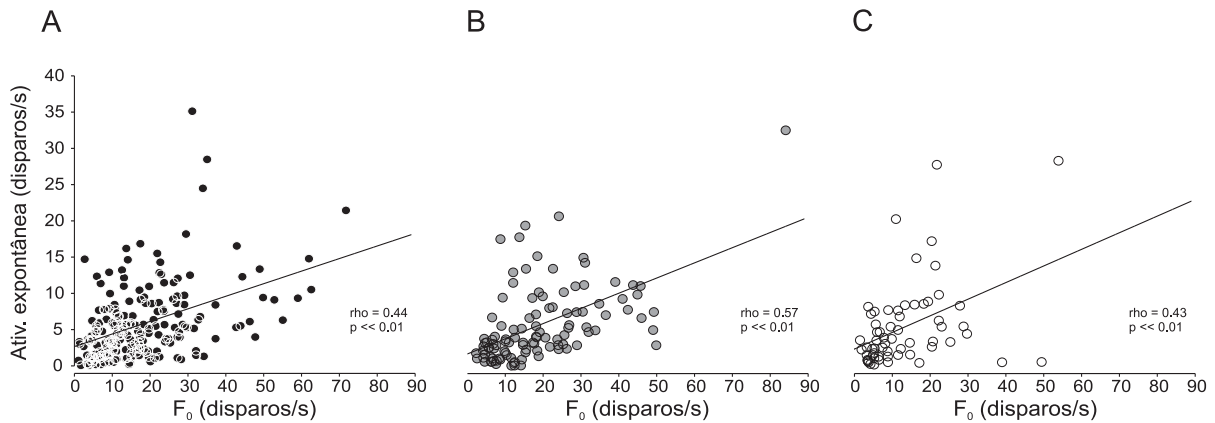


Figura 24: Relação entre a atividade espontânea e  $F_0$ . Em A, B e C são mostradas as relações entre a atividade espontânea e  $F_0$  para os grupos de células complexas, complexas<sup>F1</sup> e simples, respectivamente. As linhas em A B e C são os ajustes lineares entre as variáveis e os valores de  $\rho$  e  $p$  referem-se às correlações realizadas.

Os resultados encontrados mostram que independentemente do grupo celular a atividade espontânea possui a mesma tendência: quanto maior a atividade média da célula, maior será sua atividade espontânea.

## 5 *Comportamento da linearidade da somação espacial frente à variações de tamanho e contraste do estímulo*

### 5.1 Introdução

Trabalhos desenvolvidos no córtex visual primário de gatos (BARDY et al., 2006; CROWDER et al., 2007) mostraram uma dependência da linearidade da somação espacial da resposta evocada em função da variação do tamanho e contraste de uma grade senoidal, respectivamente. No trabalho de Bardy e colaboradores (2006), o aumento do tamanho do estímulo provocou uma linearização da resposta neuronal mostrando que a distinção entre células simples e complexas depende, pelo menos parcialmente, da supressão pelo contorno do campo receptivo. Em contrapartida, Crowder e colaboradores (2007) mostraram que se diminuindo o contraste do estímulo também era possível provocar uma linearização da resposta neuronal. De fato, se uma mesma célula pode apresentar modulações características de células simples ou de células complexas de acordo com a variação dos parâmetros do estímulo a suposição da existência de duas classes distintas deixaria de existir e a ideia de um contínuo prevaleceria. Entretanto, um estudo mais recente em macacos questiona esses resultados encontrados. Nos trabalhos desenvolvidos por Henry e colaboradores (2013) os autores encontraram uma estabilidade na classificação das células em simples e complexas variando-se o tamanho e o contraste da grade senoidal utilizada como estímulo. Os autores atribuem o aumento da linearidade da somação espacial à baixa atividade neuronal quando o estímulo não era ótimo (HENRY; HAWKEN, 2013). Realmente, se um estímulo não ótimo gera uma atividade neuronal média ( $F_0$ ) menor, intuitivamente é de se esperar que  $F_1/F_0$  aumente. Contudo, como colocado pelos autores, o motivo da discrepância entre os resultados ainda não é clara podendo estar associada às diferentes espécies de animais utilizados ou algum outro fator. Dessa

forma, com o intuito de fornecer percepções comparativas para esse problema bem como reforçar a conclusão estabelecida no capítulo anterior (a não existência de duas classes), este capítulo avalia o comportamento da linearidade da somação espacial da resposta a partir de registros extracelulares dos neurônios do wulst visual da coruja para diferentes condições de estímulos. As análises foram focadas nas variações do tamanho e contraste do estímulo. A escolha dessas duas abordagens se justifica devido à ativação de diferentes circuitos neuronais quando o tamanho e contraste do estímulo são variados. Ao se variar o tamanho do estímulo espera-se que as conexões intracorticais (conexões laterais) sejam ativadas; por outro lado, variando-se o contraste do estímulo espera-se ativar as conexões *feedforward*.

## 5.2 Resultados

### 5.2.1 Relação entre o tamanho do estímulo e a linearidade da resposta

Dados recentes de nosso laboratório (TURCHETTI-MAIA, 2011) indicaram que a maioria dos neurônios do wulst visual da coruja buraqueira apresentam uma acentuada supressão de sua atividade quando grades senoidais são expandidas além de seus campos receptivos clássicos (CRC). Assim, à medida que o tamanho do estímulo aumenta e ultrapassa os limites da definição clássica de campo receptivo a célula passa a possuir uma modulação centro-contorno supressiva. Esse fenômeno é bastante comum no córtex visual de mamíferos (para revisão ver: (ALLMAN; MIEZIN; MCGUINNESS, 1985; FITZPATRICK, 2000; ANGELUCCI; BULLIER, 2003; SERIES; LORENCEAU; FRÉGNAC, 2003)).

Com o objetivo de avaliar os efeitos da variação do tamanho do estímulo na linearidade da somação espacial 86 células foram analisadas onde esse tamanho era alterado enquanto todos os outros parâmetros (contraste, orientação, direção do movimento e frequências temporal e espacial) eram mantidos constantes para a condição ótima da célula. Somente neurônios que apresentaram um mínimo de 5% de supressão foram incluídos nesta análise. Para toda população de 86 células um aumento no tamanho do estímulo causou um aumento na taxa de disparo dos neurônios, atingindo a taxa máxima de disparo quando o estímulo preenchia seu CRC. Aumentando o estímulo além de seu CRC gerava-se uma diminuição (supressão) na atividade neuronal até atingir um platô de resposta (campo receptivo extra clássico - CREC) acima da atividade espontânea. O CREC foi determinado pelo tamanho que atingia 95% dessa supressão. Dessa forma, para as análises realizadas

foram utilizadas tamanhos de estímulo iguais ou maiores que o CRC. A figura 25 mostra uma representação esquemática com a indicação do CRC e CREC.

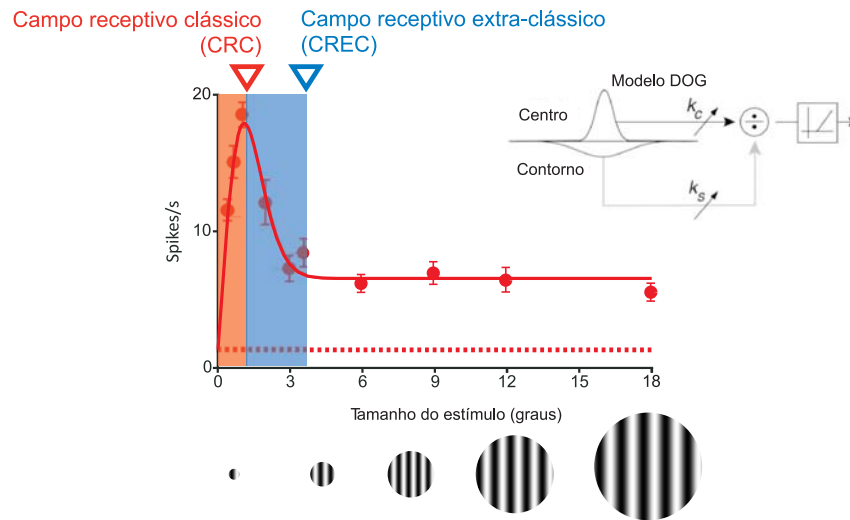


Figura 25: Representação esquemática dos tamanhos de estímulo no CRC e CREC.

Inicialmente, com o objetivo de verificar se as variações no tamanho do estímulo podem alterar significativamente a linearidade da somação espacial, os valores medianos de tal índice obtidos para a população nas condições CRC e CREC foram estatisticamente comparados. As populações de células simples e complexas (incluindo as complexas<sup>F1</sup>) apresentaram uma modificação significativa (teste Wilcoxon signed rank,  $p < 0,05$ ) em  $F_1/F_0$  quando o tamanho do estímulo foi aumentado de seus CRC para CREC. Nas células simples os índices de modulação medianos para as condições CRC e ECRE foram 1,27 [1,13 - 1,50] e 1,49 [1,20 - 1,88], respectivamente. Já para as células complexas os índices de modulação medianos nas condições CRC e CREC foram 0,37 [0,25 - 0,59] e 0,52 [0,35 - 0,82], respectivamente.

No entanto, é importante ressaltar que esse aumento na linearidade da somação espacial ocorreu devido a vários padrões distintos de comportamento em  $F_1$  e  $F_0$ . A figura 26 ilustra esse ponto para quatro exemplos representativos de nossa população. O comportamento típico de uma célula simples é apresentado na figura 26Aa e Ba:  $F_1$  é maior que  $F_0$  para todas as condições e ambas as componentes decrescem à medida que o diâmetro do estímulo aumenta, entretanto o decréscimo de  $F_0$  ocorre em uma taxa maior que o de  $F_1$ . Esse comportamento aumenta o valor da linearidade da somação espacial e ocorreu para as células classificadas como simples (16,40% - 10/61).



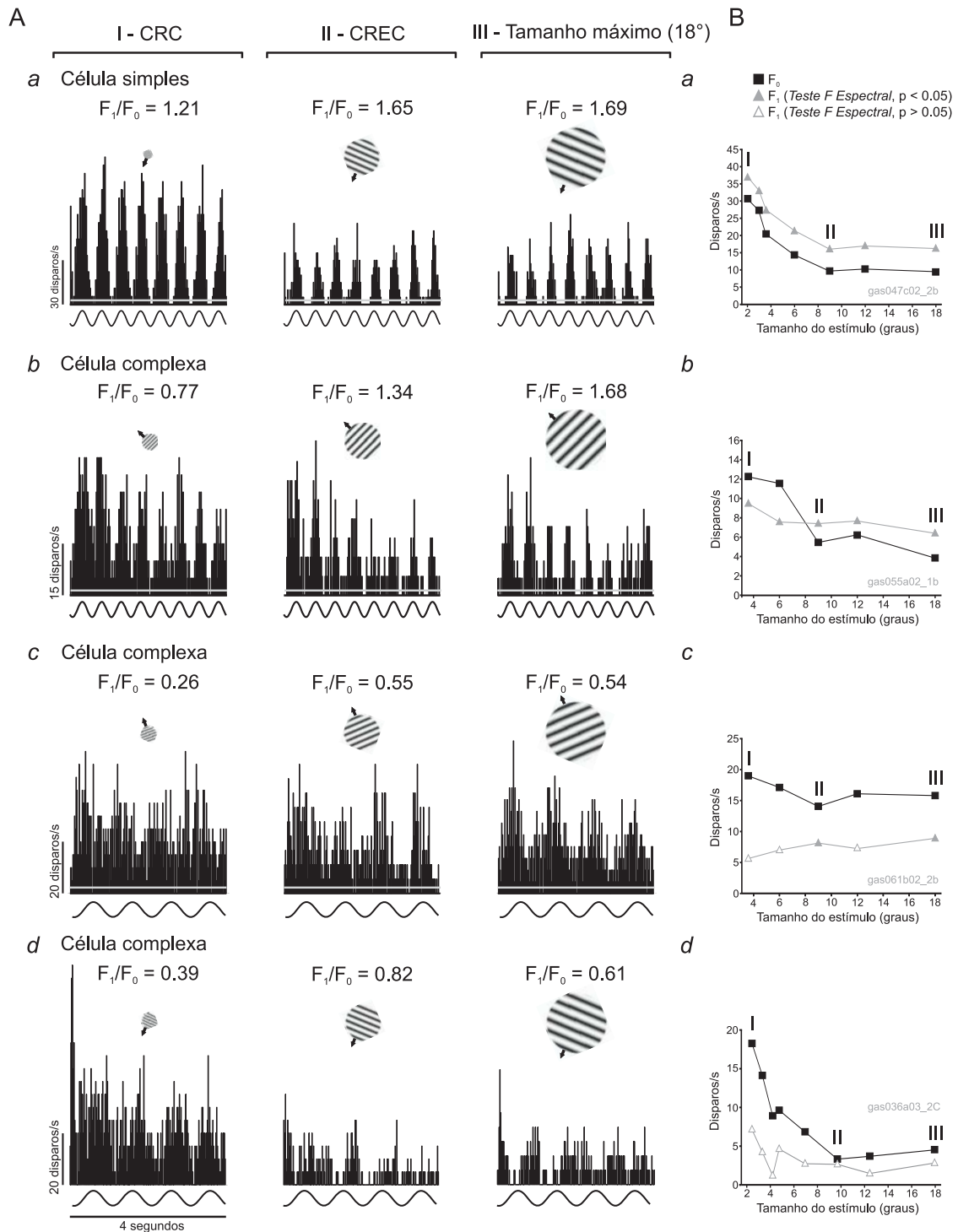


Figura 26: Evolução da resposta evocada para diferentes tamanhos de estímulo. Em A é mostrado os HTPE de quatro células, uma simples (a), uma complexa<sup>F1</sup> (b) e duas complexas (c e d), para três tamanhos de estímulo: CRC (I), CREC (II) e tamanho máximo (III). A linha cinza em cada HTPE indica a atividade espontânea das células e abaixo de cada HTPE é apresentada a representação esquemática da frequência temporal do estímulo. Em B, ao lado de cada evolução das respostas, é mostrado um gráfico indicando os valores de  $F_1$  e  $F_0$  para todos os tamanhos utilizados.

A figura 26Ab e Bb exemplifica o comportamento de uma célula complexa<sup>F1</sup>:  $F_1$  é menor do que  $F_0$  para as condições iniciais (tamanhos menores), mas quando o estímulo se torna maior ocorre um decréscimo mais acentuado em  $F_0$  do que em  $F_1$ . Portanto, os valores de  $F_1/F_0$  são menores do que um para tamanhos de estímulo menores e se tornam maiores que um para estímulos maiores. Esse comportamento ocorre para 19,67% de nossa amostra (12/61). Vale resaltar que nesse exemplo a componente fásica  $F_1$  é estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ , Teste F espectral; Fig. 26Bb - triângulos preenchidos de cinza) mesmo para condições onde a célula é classificada como complexa (CRC). Para exemplificar o comportamento das células complexas insensíveis à fase de uma grade senoidal do tamanho do CRC dois exemplos característicos podem ser vistos na figura 26: em Ac e Bc  $F_0$  é maior que  $F_1$  para todas as condições, com um decréscimo suave de  $F_0$  e aumento leve de  $F_1$  durante o aumento do tamanho do estímulo e em Ad e Bd ocorre um pronunciado decréscimo de  $F_0$  com um pequeno decréscimo em  $F_1$ . Ambas as situações também aumentam a linearidade da somação espacial e ocorrem para 22,95% (14/61) e 40,98% (25/61) de nossa amostra, respectivamente. Para o restante de nossa população (29,07% - 25/86) foi encontrado um decréscimo nos valores  $F_1/F_0$  à medida que o tamanho do estímulo era aumentado.

A amplitude do aumento de  $F_1/F_0$  em função do tamanho do estímulo para nossa população pode ser apreciada no gráfico de dispersão na figura 27A, onde cada ponto representa um par de  $F_1/F_0$  obtidos nas condições CRC e CREC de cada célula. Claramente, a maioria dos pontos ficou distribuída acima da linha de igualdade (linha contínua) com um aumento significativo na linearidade da somação espacial (intervalo de confiança de 95% - Bootstrap) para a condição CREC quando comparada à condição CRC para 24 das 86 células (27,91%). Além disso, para 20,93% (18/86) da população foi possível observar uma alteração em sua classificação de complexas<sup>F1</sup> (11/18 células) ou complexas (7/18 células) para simples (Fig. 27A - pontos pretos e cinzas acima das linhas contínua e tracejada). Esse aumento da linearidade da somação espacial pode ser claramente notado comparando-se as distribuições de  $F_1/F_0$  nas condições CRC (Fig. 27C) e CREC (Fig. 27D). Adicionalmente, para 44,19% (38/86) das células uma componente fásica estatisticamente significativa foi detectada ( $p < 0,05$ , Teste F Espectral) na condição CREC. Para entender melhor o comportamento de  $F_1$  e  $F_0$  que proporcionou o aumento da linearidade da somação espacial na condição CREC, os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$  foram comparados como pode ser visto na figura 27B. O cálculo dos ganhos foi realizado à partir da razão entre os valores de  $F_1$  e  $F_0$  encontrados na condição CREC e seus respectivos valores na condição CRC.

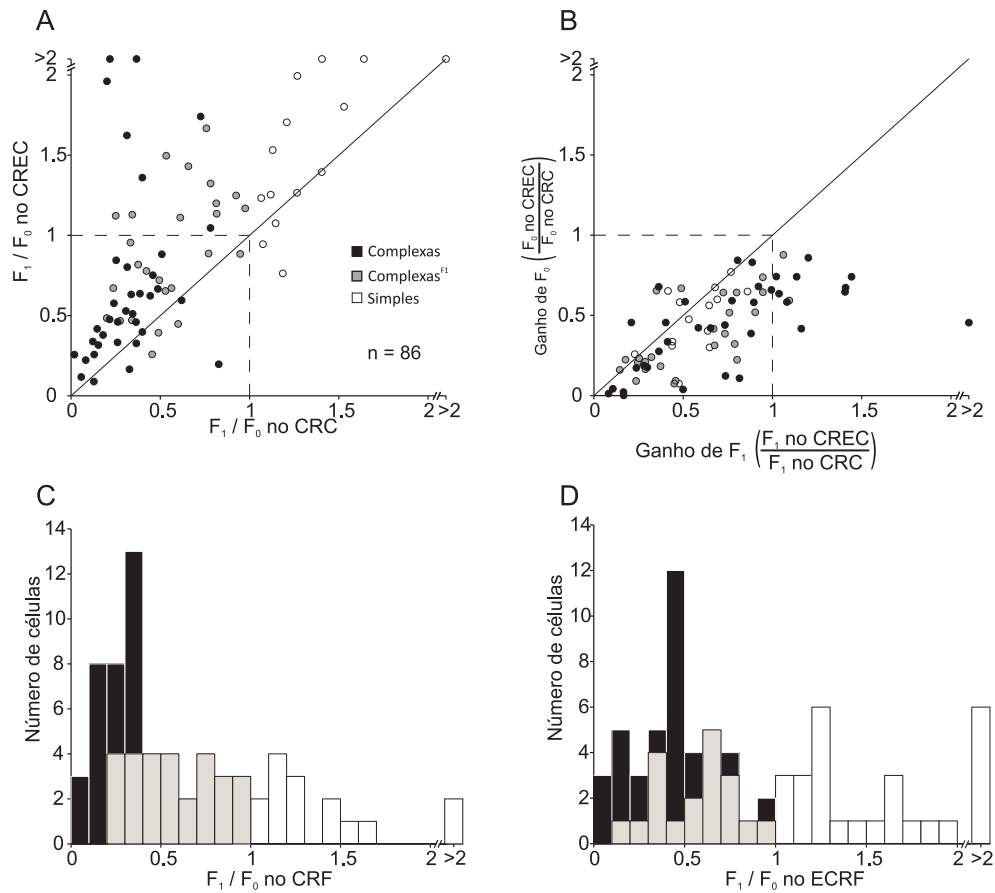


Figura 27: Efeitos do tamanho do estímulo nos índices de modulação. Em A é mostrado o gráfico de dispersão mostrando a comparação entre  $F_1/F_0$  nas condições CRC (alta atividade) e CREC (baixa atividade). Em B é mostrado o gráfico de dispersão para os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$ , calculados pela razão entre cada componente obtida na condição CREC e seu respectivo valor na condição CRC. Os círculos brancos, cinzas e pretos indicam as células classificadas como simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas correspondem à linha  $x=y$ , e as linhas pontilhadas indicam o limiar entre a classificação de simples e complexa em A e o ganho unitário de  $F_1$  e  $F_0$  em B. Em C e D são mostradas as distribuições de  $F_1/F_0$  obtidas para o tamanho do estímulo no CRC e CREC, respectivamente.

A figura 27B mostra claramente que a grande maioria das células apresentou valores de ganho menores para  $F_0$ , independentemente de sua classificação. Esse resultado indica que o aumento na linearidade da somação espacial foi mais frequentemente associado ao decréscimo da atividade média da célula ( $F_0$ ) à medida que o tamanho do estímulo era aumentado além do CRC. Esse foi o caso para 54,65% (47/86) de nossa amostra. Entretanto, é importante mencionar que esse aumento em  $F_1/F_0$  não pode ser explicado unicamente pelo decréscimo de  $F_0$ , porque para alguns casos (16,28% - 14/86) ocorreu também um aumento nos valores da componente  $F_1$ .

Para visualizar melhor o que acontece com a componente fásica variando-se as condições

de tamanhos de estímulo, a tabela 2 exibe o número de células e a porcentagem de ocorrências da componente fásica estatisticamente significativa na alta atividade (condição no tamanho CRC) e baixa atividade (condição no tamanho CREC).

Tabela 2: Variação da componente fásica estatisticamente significativa (Tamanho)

Células simples				Células complexas			
$F_1$ no CRC	$F_1$ no CREC	$n$	%	$F_1$ no CRC	$F_1$ no CREC	$n$	%
$V$	$X$	2	13,33	$V$	$X$	10	14,08
$V$	$V$	13	86,67	$V$	$V$	18	25,35
$X$	$X$	0	0	$X$	$X$	36	50,70
$X$	$V$	0	0	$X$	$V$	7	9,86

### 5.2.2 Relação entre o contraste do estímulo e a linearidade da somação espacial

Até então, neste estudo, foram utilizadas grades senoidais de alto contraste ( $> 90\%$ ) para a classificação das células em simples ou complexas. Nesta seção, para um subconjunto de 120 células, foi investigado se a diminuição dos níveis de contraste do estímulo (restritos ao CRC) pode influenciar a linearidade da somação espacial das células. Para essas análises todos os outros parâmetros do estímulo (orientação, direção do movimento e frequências temporal e espacial) eram mantidos constantes para a condição ótima da célula.

Um estudo prévio desenvolvido em nosso laboratório realizou uma análise quantitativa da resposta ao contraste dos neurônios do wulst visual da coruja buraqueira. Os resultados encontrados indicaram que os neurônios do wulst visual exibiam um perfil de resposta monotônico à medida que o contraste era aumentado de 0 a próximo de 100%. Eles também mostraram que as funções de resposta ao contraste possuem formas altamente variadas com muitas delas não saturando mesmo a altos contrastes, como pode ser visto pela figura 28 (VIEIRA; SOUSA; BARON, 2015).

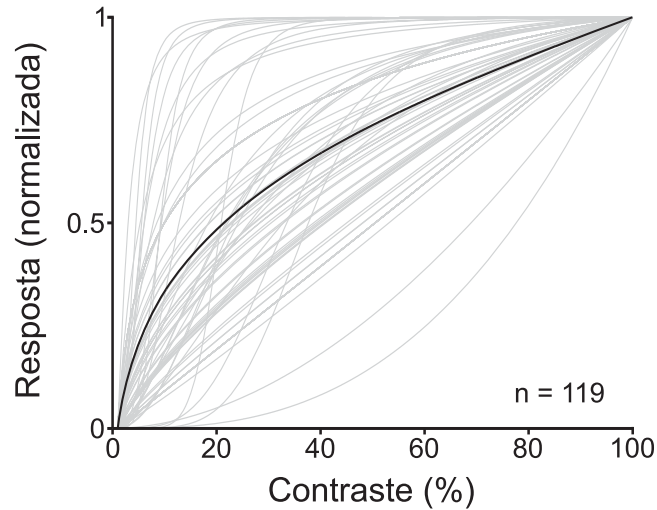


Figura 28: Funções de resposta ao contraste. Na figura é apresentada a alta heterogeneidade das funções de resposta ao contraste. Cada curva em cinza representa o melhor modelo ajustado e normalizado para cada célula isolada nesse estudo. A curva em preto representa a curva média das respostas,  $n = 119$ . Figura original de (VIEIRA; SOUSA; BARON, 2015)

Para as análises desta sessão, as respostas neurais das 120 células foram verificadas mais detalhadamente para duas condições de estímulo: (i) limiar de contraste, que foi determinado pelo valor de contraste mínimo necessário para evocar um aumento significativo na taxa de disparo da célula acima da atividade espontânea (determinado pelo teste Wilcoxon Signed-Rank,  $p < 0,05$ ), e (ii) alto contraste (98%). O valor de contraste mediano mínimo (limiar de contraste) encontrado na população de 120 células foi de 7,14% [3,71% - 19,07%].

Assim como foi realizado para a análise da variação do tamanho do estímulo, inicialmente, a linearidade da somação espacial das condições de contraste máximo e limiar de contraste foram comparados para as células classificadas como simples e complexas (incluindo as complexas<sup>F1</sup>) com o objetivo de verificar se as variações do contraste do estímulo podem alterá-lo significativamente. Os valores medianos dos índices de modulação para as células complexas desse subgrupo foram significativamente aumentados (teste Wilcoxon signed rank,  $p < 0,05$ ) quando os níveis de contraste acromático eram diminuídos do contraste máximo para o limiar de contraste: 0,36 [0,20 - 0,61] e 0,40 [0,31 - 0,59], respectivamente. Entretanto nenhuma alteração nos valores medianos dos índice de modulação pode ser verificada para as células simples (teste Wilcoxon signed rank,  $p = 0,27$ ) comparando-se o contraste máximo e o limiar de contraste: 1,32 [1,10 - 1,72] e 1,03 [0,47 - 2,28], respectivamente.

A figura 29A mostra o gráfico de dispersão para os valores de  $F_1/F_0$  encontrados nas condições de contraste máximo e limiar de contraste.

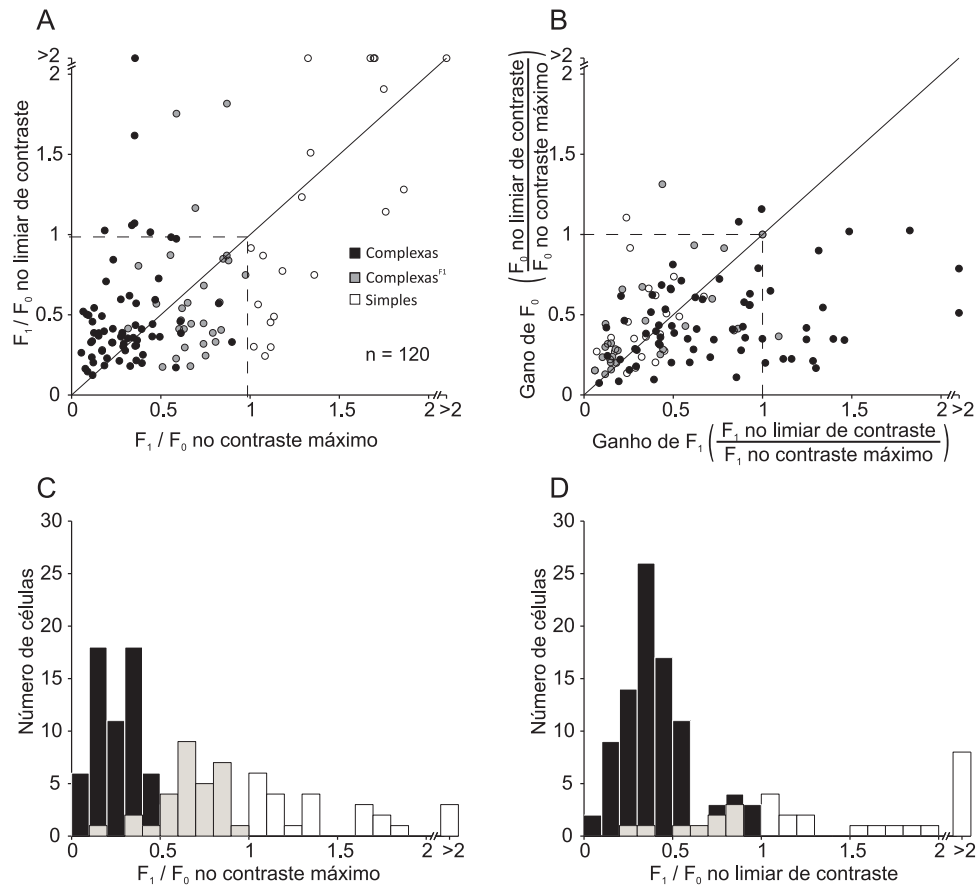


Figura 29: Efeitos da variação do contraste do estímulo na linearidade da somação espacial. Em A é mostrado o gráfico de dispersão mostrando a comparação entre  $F_1/F_0$  nas condições de contraste máximo (alta atividade) e limiar de contraste (baixa atividade). Em B é mostrado o gráfico de dispersão para os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$ , calculados pela razão entre cada componente obtida na condição de limiar de contraste e seu respectivo valor na condição de contraste máximo. Os círculos brancos, cinzas e pretos indicam as células classificadas como simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas correspondem à linha  $x=y$ , e as linhas pontilhadas indicam o limiar entre a classificação de simples e complexa em A e o ganho unitário de  $F_1$  e  $F_0$  em B. Em C e D são mostradas as distribuições de  $F_1/F_0$  obtidas para o contraste máximo e no limiar de contraste do estímulo, respectivamente.

Comparando as linearidades da somação espacial de cada célula nas duas condições verificou-se que 15,00% (18/120) da amostra apresentou um aumento significativo desse parâmetro quando estímulos de baixo contraste foram apresentados (intervalo de confiança de 95% - Bootstrap). Para 20,00% (25/120) das células foi possível detectar uma componente fásica estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ , Teste F Espectral) na condição de baixo contraste. Apenas um pequeno número de células (7,50% - 9/120) alteraram sua

classificação de complexas ou complexas<sup>F1</sup> para simples quando o contraste do estímulo era diminuído (figura 29A, pontos pretos e cinzas acima das linhas contínua e tracejada). A grande maioria das células classificadas como complexas apresentou aumento na linearidade da somação espacial na condição de limiar de contraste. Por outro lado, um comportamento oposto foi observado para quase metade da amostra (47,50% - 57/120) analisada: decréscimo na linearidade da somação espacial na condição de limiar de contraste. Esse comportamento ocorreu principalmente para células simples e complexas<sup>F1</sup>. Interessantemente, foi possível detectar uma componente fásica ( $p < 0,05$ , Teste F Espectral) em 59,65% (34/57) dessa amostra a alto contraste e somente 17,54% (10/57) a baixo contraste. Além disso, essas componentes fásicas encontradas no limiar de contraste possuíam valores menores que no alto contraste.

Analisando os ganhos de  $F_1$  e  $F_0$  (figura 29B), para as células que apresentaram um aumento em  $F_1/F_0$  (63/120), verificou-se que em 26,98% dos casos (17/63) ocorreu um aumento em  $F_1$  e decréscimo em  $F_0$ , enquanto que no restante dos casos (70,02% - 46/63) ocorreu um decréscimo maior em  $F_0$  do que em  $F_1$ . Esses resultados sugerem que ambas as componentes ( $F_1$  e  $F_0$ ) influenciam no aumento da linearidade da somação espacial celular quando o contraste do estímulo é diminuído (baixa atividade), e não somente a diminuição de  $F_0$  como proposto por alguns autores (HENRY; HAWKEN, 2013; HIETANEN et al., 2013). A figura 29C e D apresenta as distribuições das linearidades da somação espacial para as condições de contraste máximo e limiar de contraste, respectivamente. Comparando as duas distribuições é fácil de perceber que a linearidade da somação espacial para as células complexas aumentaram para o limiar de contraste, enquanto que as células complexas<sup>F1</sup> perderam suas componentes fásicas e diminuíram seus valores de  $F_1/F_0$ .

Assim como feito para a variação do tamanho do estímulo, a tabela 3 exibe o número de células e a porcentagem de ocorrências da componente fásica estatisticamente significativa na alta atividade (condição no contraste máximo - CM) e baixa atividade (condição no limiar de contraste - LC).

Comparando as tabelas 2 e 3, nota-se que a proporção de células que tinha a componente fásica na alta atividade e a perdeu na baixa atividade é maior para o protocolo da variação do contraste que para variação do tamanho. Outra característica marcante é a proporção de células que apresenta uma componente fásica em ambas as condições (alta e baixa atividade), sendo que o protocolo da variação do tamanho do estímulo parece preservar mais esse atributo do que o protocolo da variação do contraste. Esses dois fatos provavelmente podem refletir mecanismos distintos subjacentes ao comportamento

Tabela 3: Variação da componente física estatisticamente significativa (Contraste)

Células simples				Células complexas			
$F_1$ no CM	$F_1$ no LC	$n$	%	$F_1$ no CM	$F_1$ no LC	$n$	%
V	X	10	41,67	V	X	23	23,96
V	V	13	54,17	V	V	7	7,29
X	X	1	4,17	X	X	61	63,54
X	V	0	0	X	V	5	5,21

neuronal para diferentes protocolos de estimulação.

### 5.2.3 Efeitos da baixa atividade na linearidade da somação espacial para células complexas insensíveis à fase do estímulo

A baixa atividade neuronal pode levar ao aumento da linearidade da somação espacial. Isso ocorre porque conforme a atividade média decai, a relação de  $F_1/F_0$  tende a aumentar ao acaso (HENRY; HAWKEN, 2013). Portanto, foi avaliada a influência da baixa atividade sobre a linearidade da somação espacial para todas as células, com o intuito de verificar até que ponto a baixa atividade causada por estímulos não ideais pode ter influenciado os valores de  $F_1/F_0$  reportadas nas seções anteriores. Para isso, modificamos um modelo de célula complexa invariante a fase proposto por Hietanen e colaboradores (2013). Esse modelo consiste em criar uma trilha de potenciais de ação com  $n$  disparos distribuídos randômica e uniformemente em um intervalo correspondente a um ciclo de uma grade senoidal. Em seguida, a Transformada de Fourier é aplicada na trilha e a relação  $F_1/F_0$  é então calculada. Esse procedimento é repetido  $10^5$  vezes para cada valor de  $n$  (variando de 1 a 500 disparos de potenciais de ação). A modificação realizada no modelo reside no cálculo de  $F_1/F_0$  que foi obtido à partir da aplicação da Transformada de Fourier sobre um HTPE e não em uma única trilha de potenciais de ação. Os HTPEs foram construídos utilizando-se dez trilhas, cada uma com o mesmo número de disparos (mesmo  $n$ ) distribuídos com as mesmas propriedades acima citadas. Esse procedimento também foi repetido por  $10^5$  vezes para cada valor de  $n$ . Exemplos das saídas geradas pelos dois modelos podem ser visualizados na figura 30.



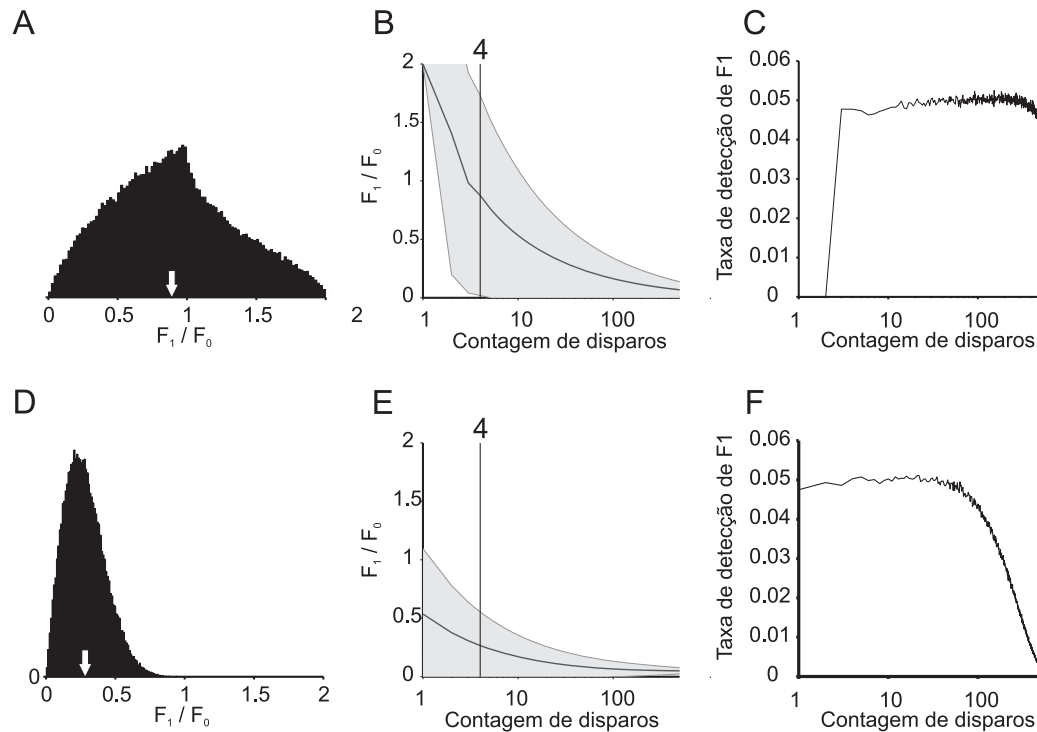


Figura 30: Efeitos da baixa atividade previstos por um modelo de célula complexa invariante à fase do estímulo. Em A é mostrada a distribuição das linearidades da somação espacial à partir de  $10^5$  repetições para uma contagem de 4 disparos. Em B é apresentado as estimativas das linearidade da somação espacial em função da taxa de disparo. Em C é apresentada a taxa de detecção para a componente fásica  $F_1$  para cada distribuição das contagens de disparo usando o Teste F Espectral. Os gráficos em A, B e C apresentam os resultados para o modelo proposto por Hietanen e colaboradores (2013). Em D, E e F são apresentadas as mesmas informações de A, B e C, entretanto utilizando o modelo modificado. Em A e D as medianas das distribuições são indicadas por uma seta branca. Em B e E, as linhas verticais indicam a posição da distribuição obtidas respectivamente em A e D e as linhas contínuas em preto indicam as tendências centrais com suas respectivas dispersões nas áreas sombreadas em cinza (intervalo de confiança de 95%).

Comparando a saída dos dois modelos, foi observado que a baixos níveis de disparo (baixo valor de  $n$ ) a abordagem baseada no modelo original revelou uma ampla distribuição nos valores de  $F_1/F_0$  (Fig. 30A; para um  $n = 4$ ), com uma tendência central de 0,88 [0,57 - 1,19] (seta branca). Dado que esse modelo é invariante a fase, a alta variabilidade nos valores de  $F_1/F_0$  é causado estritamente pela baixa atividade média  $F_0$ . O aumento do número de disparos ( $n$ ) diminui a tendência central da linearidade da somação espacial (Fig. 30B; linha contínua) e estreita a sua distribuição (Fig. 30B área sombreada, i.e. intervalo de confiança de 95%), reduzindo muito a probabilidade de uma célula complexa ser erroneamente classificada como simples. Por outro lado, o modelo modificado (FFT baseada no HTPE) gerou uma distribuição estreita de valores de  $F_1/F_0$  já a baixo níveis

de disparos (0,27 [0,17 - 0,38]; Fig. 30D;  $n = 4$ ), sendo ainda mais confinada para altos valores de  $n$  (Fig. 30E). Isso significa que, apesar da baixa taxa de disparos contribuir para o aumento da relação  $F_1/F_0$ , a classificação das células tende a se manter inalterada em função do número de disparos. Portanto, nossa análise da linearidade da somação espacial gerada a partir do HTPE minimiza o viés causado pelo baixo número de disparos de potenciais de ação. Também foi avaliado a presença de possíveis componentes fásicas ( $F_1$ ) nas simulações geradas pelo modelo de células complexas invariantes a fase, já que a baixa atividade pode originar tal componente ao acaso, dependendo da distribuição dos potenciais de ação em função do tempo. Assim, o teste F spectral foi aplicado em cada repetição das simulações, tanto para o modelo original (Fig. 30C) quanto para o baseado no PSTH (Fig. 30F). Para ambos os modelos, a probabilidade de encontrar uma componente fásica estatisticamente significativa é menor do que 5%. Além disso, para o modelo modificado, aumentando o número de disparos diminui a taxa de detecção de  $F_1$ . Uma vez que o modelo simula a resposta de uma célula complexa invariante à fase do estímulo, esse resultado reforça a robustez do teste F spectral, dada a baixa probabilidade na detecção de eventos falso positivos.

As relações de  $F_1/F_0$  obtidas em baixa (condições de tamanho CREC ou limiar de contraste) e alta atividade (condições de CRC ou contraste máximo) foram comparadas com os valores gerados pelo modelo modificado, isto é, a mediana das distribuições de  $F_1/F_0$  com seus respectivos intervalos de confiança variando-se o  $n$  no modelo. Dessa forma, espera-se que células classificadas como complexas sem componente fásica significativa fiquem dentro do intervalo de confiança obtido pelo modelo e células simples e complexas<sup>F1</sup> fiquem fora desse intervalo de confiança. A figura 31 mostra o número de disparos em função dos valores de  $F_1/F_0$  obtidos para os protocolos de tamanho (Fig. 31A e B) e contraste (Fig. 31C e D).

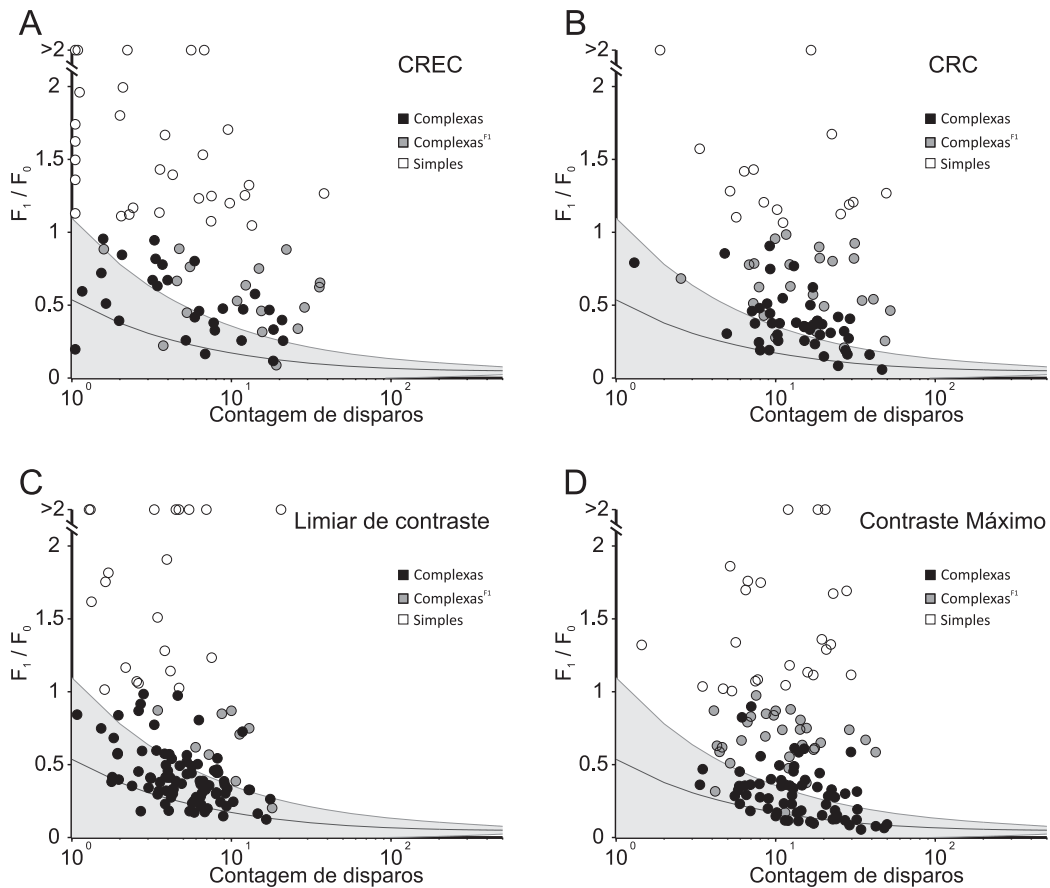


Figura 31: Comparação entre os valores  $F_1/F_0$  derivados do modelo modificado e os valores obtidos dos dados experimentais sob diferentes atividades neuronais. Em A e B são apresentadas as comparações dos valores de  $F_1/F_0$  do modelo com os valores experimentais a baixa (CREC) e alta (CRC) atividade na variação do tamanho, respectivamente. Em C e D o mesmo que A e B mas para o limiar de contraste e contraste máximo, respectivamente. Em todos os gráficos, os pontos brancos, cinzas e pretos indicam as células simples, complexas<sup>F1</sup> e complexas, respectivamente. As linhas contínuas em preto indicam as tendências centrais do modelo modificado com suas respectivas dispersões nas áreas sombreadas em cinza (intervalo de confiança de 95%).

É possível notar que, para ambos os protocolos, a maioria das células com componente fásica estatisticamente significativa (simples: círculos brancos; complexa<sup>F1</sup>: círculos cinzas) se encontram fora do intervalo de confiança de 95% (área sombreada de cinza na fig. 31) determinado pelo modelo. A tabela 4 quantifica esse comportamento para ambos os protocolos.

Tabela 4: Quantificação das células fora do intervalo de confiança de 95% do modelo

Células	Tamanho				Contraste			
	CRC		CREC		Máximo		Limiar	
	$n$	%	$n$	%	$n$	%	$n$	%
simples	15/15	100	30/30	100	24/24	100	21/21	100
complexas <sup>F1</sup>	26/28	92,86	14/17	82,35	28/30	93,33	8/9	88,89
complexas	27/43	62,79	16/39	41,03	25/66	37,88	22/90	24,44

Esse resultado indica que quando uma célula apresenta uma componente fásica significativa em sua resposta, o aumento da linearidade da somação espacial não pode ser justificado somente pela diminuição da atividade neuronal média ( $F_0$ ) devido a utilização de estímulos não ideais (baixa atividade).

## 6 *Mapeamento 2D dos campos receptivos*

### 6.1 Introdução

Nos capítulos anteriores foram apresentados os resultados encontrados a partir de registros unitários tendo como estímulos grades senoidais variando alguns parâmetros do estímulo, por exemplo, contraste e tamanho. Algumas células registradas apresentaram uma linearização da resposta chegando, em alguns casos, a mudar de categoria.

O comportamento das células como simples ou complexa ainda está sendo debatido por vários pesquisadores e uma pergunta que ainda precisa ser respondida é como os campos receptivos emergem da conectividade talamo-cortical e cortico-cortical. Além disso, é desejável uma melhor compreensão da existência de uma proporção substancialmente relevante de campos receptivos com propriedades intermediárias de células simples e complexas. Neste trabalho, essas propriedades intermediárias serão testadas verificando se a reorganização espacial das subunidades dos campos receptivos varia em função do estímulo aplicado. Mapas 2D, gerados à partir da estimulação por meio de ruídos brancos (ruído esparsos e denso), indicarão se as subunidades dos CRs preservam suas características espaciais. Dessa forma, esta parte do trabalho se justifica devido a necessidade de se entender melhor os fenômenos envolvidos na reconfigurabilidade dinâmica dos campos receptivos e como esse tipo de adaptação influencia na codificação de atributos visuais.

### 6.2 Resultados

Os resultados apresentados nesta seção foram baseados em registros extracelulares realizados no wulst visual de 4 corujas-buraqueiras (*Athene cunicularia*,  $n = 37$ ) acordadas e 2 corujas-suindara (*Tyto alba*,  $n = 25$ ) sedadas totalizando 62 células. Os neurônios foram aleatoriamente amostrados em diferentes profundidades da porção do wulst visual

dedicada à representação do campo visual central.

### 6.2.1 Análise da relação espacial entre as subunidades *ON* e *OFF*

Para os exemplos que serão apresentados a seguir, os mapas das subunidades *ON* e *OFF* foram escolhidos para o tempo de atraso ( $\tau$ ) onde ocorria a maior soma das atividades entre eles. A figura 32 mostra alguns mapeamentos de campos receptivos por meio da correlação reversa utilizando como estímulo um ruído esparso.

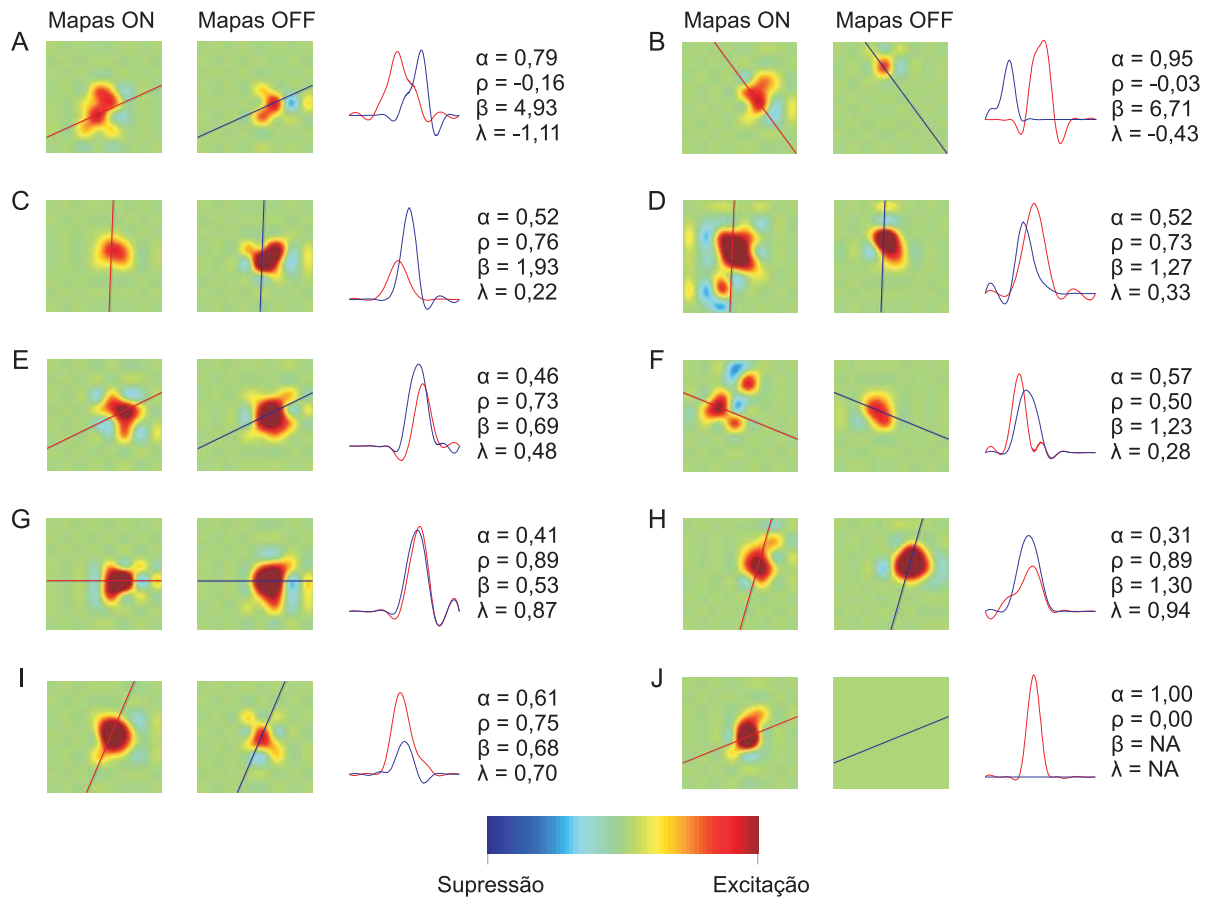


Figura 32: Mapas *ON* e *OFF* obtidos pela correlação reversa utilizando um ruído esparso como estímulo. Como indicado pelo mapa de cor (parte inferior da figura), as regiões em vermelho mostram áreas onde os estímulos induziram um aumento na atividade neuronal acima da atividade espontânea e as regiões em azul mostram áreas onde ocorreu uma supressão da atividade abaixo da atividade espontânea. Ao lado dos mapas *ON* e *OFF* encontram-se os respectivos cortes utilizados para os cálculos das métricas  $\beta$  e  $\lambda$ . As linhas vermelhas indicam os cortes nos mapas *ON* e as linhas azuis os cortes nos mapas *OFF*. Ao lado das linhas de corte encontram-se os valores encontrados para as quatro métricas de quantificação da sobreposição espacial.

Para cada exemplo da figura 32 são mostrados os mapas *ON* e *OFF* com suas respectivas linhas de orientação que passam pelos pontos de máxima atividade dentro das

subunidades, os cortes unidimensionais para os respectivos mapas (linha vermelha representando o corte no mapa  $ON$  e linha azul representando o corte no mapa  $OFF$ ) e o valor encontrado para os índices de sobreposição de cada uma das métricas descritas anteriormente. De acordo com a definição clássica de células simples proposta inicialmente por Hubel e Wiesel (1962) é possível verificar subunidades  $ON$  e  $OFF$  com pouca sobreposição espacial, ou seja, localizadas em regiões espaciais distintas (Fig. 32A-B). Em alguns casos a falta de sobreposição não está tão evidente (Fig. 32C-F) como pode ser verificado também pelos valores encontrados nos índices de sobreposição calculados pelas diversas métricas. Por outro lado, como esperado pela descrição clássica de células complexas é possível verificar uma grande sobreposição das subunidades  $ON$  e  $OFF$  (Fig. 32G-I). A sobreposição entre as subunidades também pode ocorrer com intensidades de respostas distintas (Fig. 32H-I). Por último, é mostrado um exemplo onde somente ocorreram respostas para os estímulos com luminosidade alta (barras brancas) gerando o mapa  $ON$  (Fig. 32J).

Várias correlações (correlação linear para o teste de Spearman) foram realizadas entre todas as métricas com o objetivo de verificar se os valores dos índices de sobreposição calculados possuíam correspondências entre si e em relação ao índice de modulação ( $F_1/F_0$ ). A figura 33 mostra os pares de correlação entre as métricas de sobreposição espacial com seus respectivos coeficientes de correlação, valores de  $p$  e as linhas indicativas do ajuste linear entre as métricas correlacionadas.

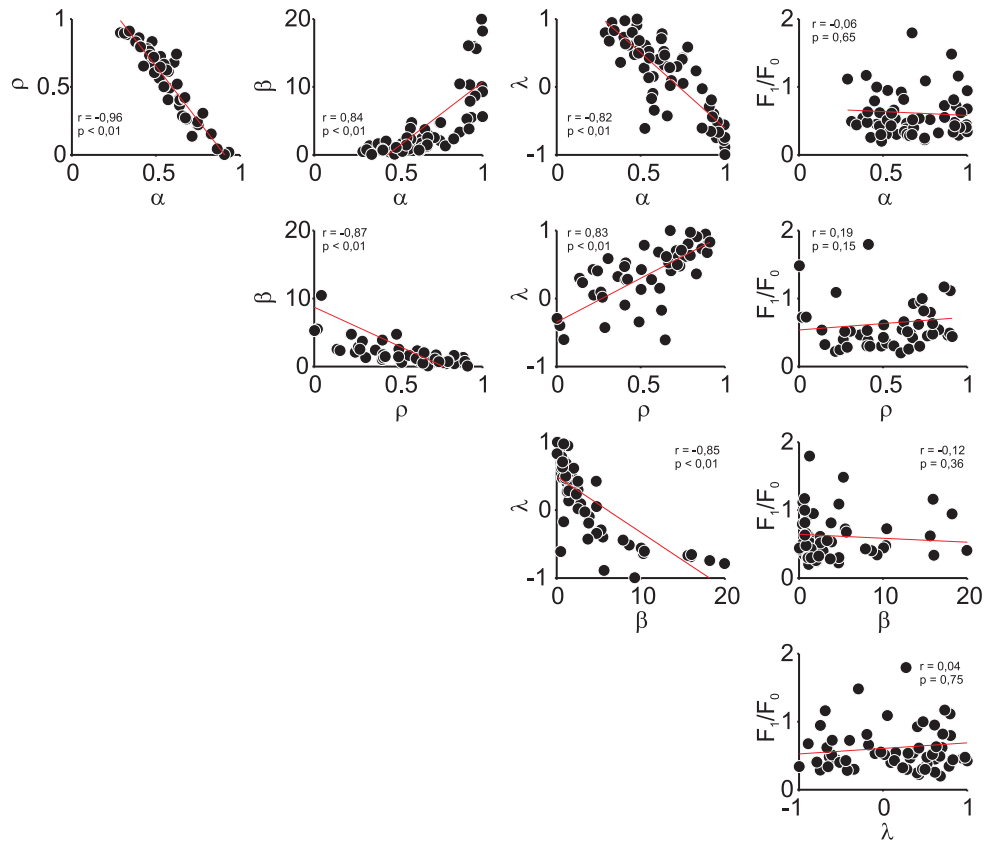


Figura 33: Relação entre as métricas de cálculo dos índices de sobreposição e a taxa de modulação. Gráficos de dispersão entre todas as combinações de  $\alpha$ ,  $\rho$ ,  $\beta$ ,  $\lambda$  e  $F_1/F_0$ . As linhas vermelhas indicam um ajuste linear entre as métricas correlacionadas. Os coeficientes de correlação e os valores de  $p$  são mostrados dentro de cada gráfico.

Como pode ser verificado pela figura 33 todas as correlações encontradas entre as métricas que quantificavam os índices de sobreposição se mostraram muito fortes ( $|r| > 0,8$ ) e estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ). Entretanto ao se comparar essas métricas ao índice de modulação ( $F_1/F_0$ ) as correlações se mostraram muito fracas ( $|r| < 0,20$ ) e estatisticamente não significativas ( $p \geq 0,15$ ).

### 6.2.2 Análise do tempo de atraso ( $\tau$ ) ótimo

Nesta seção os tempos de atrasos serão analisados para encontrar o tempo de atraso ótimo, ou seja, aquele que gera a maior taxa de disparo nos mapas dos campos receptivos *ON* e *OFF*.

Inicialmente foram encontrados separadamente os atrasos que proporcionavam a maior variância dentre todos os mapas *ON* e *OFF* já normalizados pelo *z-score*. Em seguida as variâncias encontradas para ambos os mapas eram comparadas e o  $\tau$  que gerava a maior



variância era então escolhido como referência ( $\tau_{otimo}$ ). A figura 34 mostra a distribuição dos  $\tau_{otimo}$  encontrados.

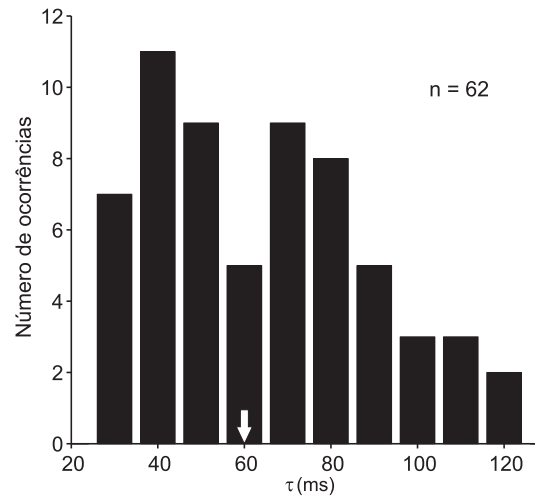


Figura 34: Distribuição dos atrasos de tempo para os mapas de campo receptivo. A seta em branco indica a mediana da distribuição.

A mediana dos  $\tau_{otimo}$  encontrados foi de 60 ms [40 ms - 80 ms]. Contudo, como pode ser visto pela figura 34 a distribuição apresenta maiores frequências de ocorrência localizados aproximadamente em 40 e 70 ms.

Tentando averiguar se tais picos poderiam estar sendo ocasionados por preferências distintas de tempos de atrasos entre os mapas *ON* e *OFF* novas distribuições foram realizadas separando os  $\tau_{otimo}$  encontrados por grupos como pode ser visto na figura 35.

Analisando a figura 35 é possível perceber que as distribuições são diferentes para os grupos *ON* e *OFF* possuindo medianas de 80 ms [55 ms - 90 ms] e 50 ms [40 ms - 60 ms], respectivamente. A diferença entre as distribuições foi verificada pelo teste Wilcoxon rank sum ( $p \ll 0,01$ ). O surgimento das estruturas dos campos receptivos das subunidades *OFF* também se iniciam anteriormente ao das estruturas das subunidades *ON* (teste Wilcoxon rank sum,  $p \ll 0,01$ ) possuindo tempos iniciais medianos de 30 ms [10 ms - 40 ms] e 40 ms [30 ms - 60 ms], respectivamente. Curiosamente o tempo em que a atividade é mantida para a construção das estruturas das subunidades *OFF* é menor que para as subunidade *ON* (teste Wilcoxon rank sum,  $p \ll 0,01$ ) possuindo tempo mediano de duração de 40 ms [30 ms - 60 ms] e 55 ms [40 ms - 70 ms], respectivamente.

A partir desses resultados é possível inferir que os atrasos de tempo ótimo, o início da atividade para a construção dos mapas e o tempo que essa atividade é mantida nos mapas *OFF* são menores que nos mapas *ON*. Essas diferenças podem estar associadas a

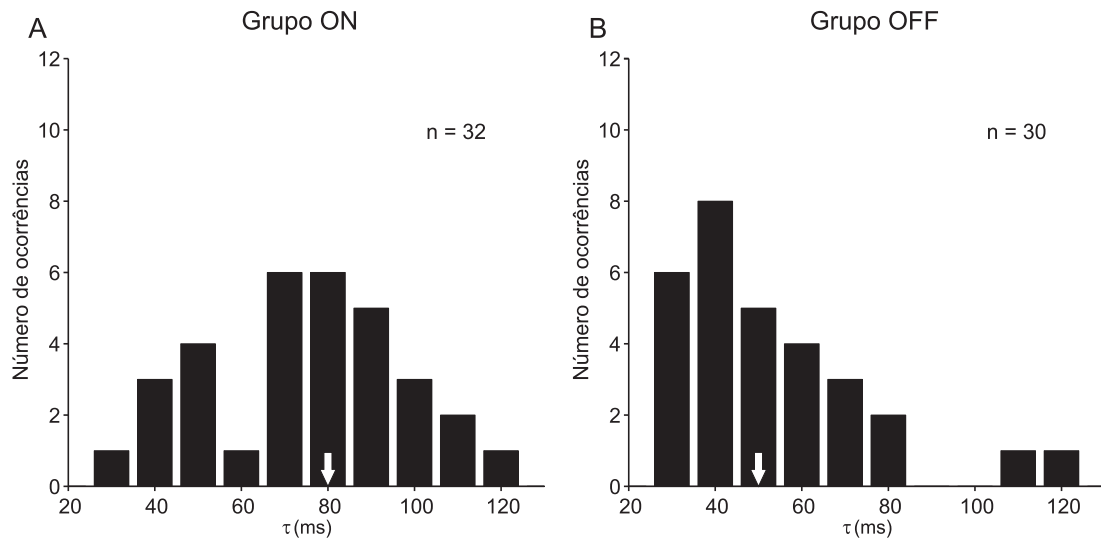


Figura 35: Distribuição dos atrasos de tempo para os mapas de campo receptivo separados por grupos. A e B correspondem às distribuições dos  $\tau_{otimo}$  para o grupo *ON* e *OFF*, respectivamente. As setas em branco indicam as medianas das distribuições.

uma percepção mais rápida dos estímulos pretos que dos brancos.

### 6.2.3 Análise da dominância à estimulação visual usando o ruído esparsos

A partir da estimulação visual por meio do ruído esparsos, alguns trabalhos recentes tentaram quantificar qual estímulo (barra branca ou preta) evocava mais atividade no mapeamento das subunidades *ON* e *OFF*. A partir da realização de registros extracelulares no tecto óptico de galinhas anestesiadas, os resultados encontrados pelos pesquisadores mostraram que a maioria dos neurônios registrados apresentavam uma maior atividade neuronal aos estímulos pretos que aos brancos (VERHAAL; LUKSCH, 2013). Outros estudos recentes, realizando registros no córtex visual primário de mamíferos, também relataram uma maior atividade neuronal quando estímulos pretos eram apresentados: musaranho (VEIT et al., 2013) e macacos (XING; YEH; SHAPLEY, 2010; YEH et al., 2009).

Assim, neste trabalho os mapas dos campos receptivos foram analisados de duas formas diferentes tentando encontrar alguma tendência que mostrasse uma dominância de polaridade luminosa (preto ou branco) no wulst visual da coruja. Na primeira análise foram escolhidos os atrasos de tempo que evocavam a maior atividade para as subunidades *ON* e *OFF* separadamente. Em seguida estas atividades eram comparadas e a preferência ao estímulo visual era definida pela subunidade que apresentasse maior atividade. A segunda análise levou em consideração as atividades das subunidades durante todos os

atrasos de tempo. A subunidade que apresentasse maior atividade global ao longo do tempo definiria a preferência visual.

A figura 36 mostra o número de ocorrências onde as subunidades *ON* e *OFF* apresentavam maior atividade para a primeira e segunda análise, respectivamente em A e B.

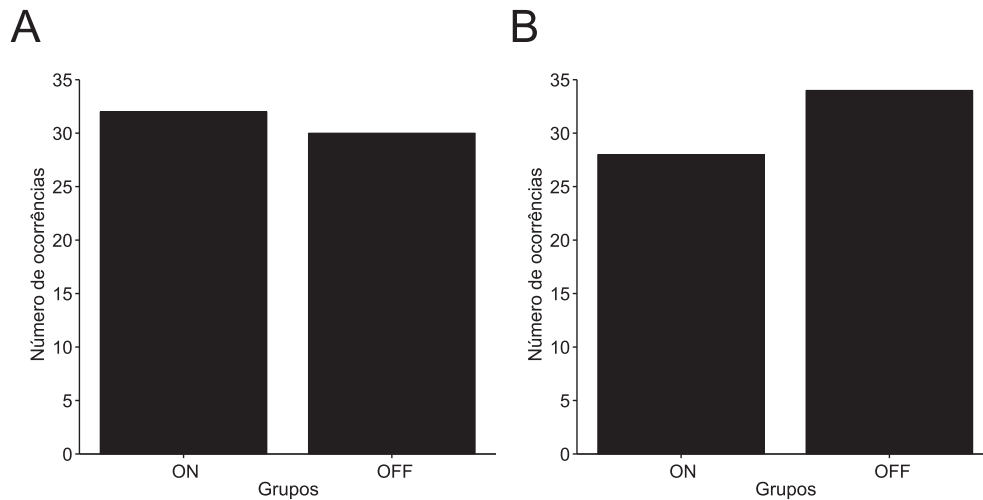


Figura 36: Comparação do número de ocorrências para os grupos *ON* e *OFF* quanto à preferência visual. Em A a preferência ao estímulo visual era definida pela subunidade que apresentasse maior atividade separadamente. Em B essa preferência foi definida para a subunidade que apresentasse maior atividade global ao longo do tempo.

Como pode ser visto na figura 36A praticamente não há dominância na preferência à estimulação visual levando em consideração o tempo de atraso que proporciona a maior atividade em cada subunidades. Em 51,61% (32/62) das células ocorreu a preferência a estímulos brancos e em 48,39% (30/62) a estímulos pretos. Por outro lado, uma ligeira preferência à estímulos pretos pode ser percebida quando a atividade global ao longo do tempo é levada em consideração (figura 36B), sendo que 45,16% (28/62) das células prefeririam os estímulos brancos e 56,84% (34/62) os estímulos pretos. Pelos resultados encontrados esta preferência à estimulação visual não é clara em nossos dados, necessitando talvez de uma maior amostragem para conclusões futuras.

#### 6.2.4 Campos receptivos dinâmicos ou invariantes?

Nesta seção será verificado se a construção das estruturas dos campos receptivos apresentavam características dinâmicas ou estáticas. Essa verificação foi realizada de duas formas distintas: (1) verificação da variação da organização espacial das subunidades ao

longo do tempo utilizando um ruído esparsos como estímulo visual e (2) a verificação da variação da organização espacial das subunidades a partir da utilização de estímulos visuais distintos (ruído esparsos e denso). Na verificação da dinâmica temporal, o atraso de tempo onde ocorria a maior soma das atividades dos mapas *ON* e *OFF* ( $\tau_{ref}$ ) era utilizado como referência para o cálculo das métricas de quantificação da sobreposição espacial. Para todos os outros atrasos de tempo as métricas de quantificação da sobreposição espacial foram calculadas e comparadas com os valores encontrados para o  $\tau_{ref}$ .

A figura 37 mostra um exemplo onde a localização espacial das subunidades se altera ao longo do tempo.

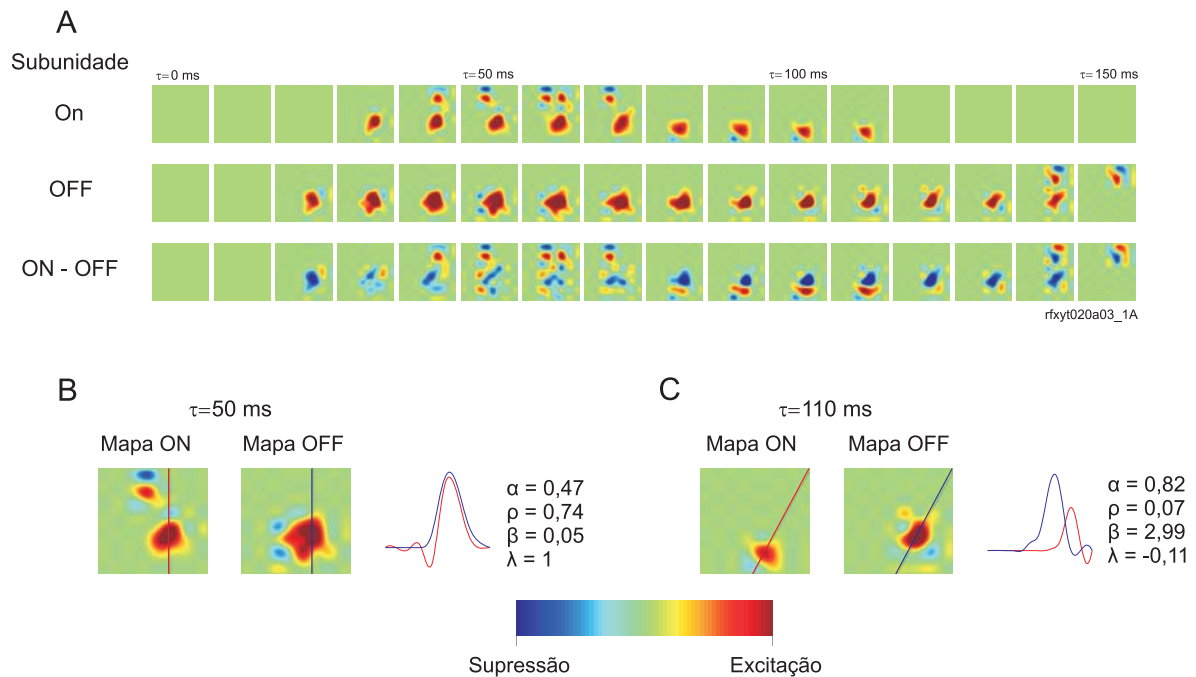


Figura 37: Evolução temporal das estruturas dos campos receptivos. Em A é mostrado a evolução temporal das subunidades *ON*, *OFF* e *ON - OFF* para todos os atrasos de tempo ( $\tau$ ). Em B e C são mostrados os mapas das subunidades *ON* e *OFF* para os atrasos de tempo de 50 ms ( $\tau_{ref}$ ) e 110 ms, respectivamente. Ao lado dos mapas estão os respectivos cortes utilizados para os cálculos das métricas  $\beta$  e  $\lambda$ , e os valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial. As linhas vermelhas indicam o corte nos mapas *ON* e as linhas azuis o corte nos mapas *OFF*, os cortes passam pelos pontos de máxima atividade dentro das subunidades. A parte inferior da figura indica o mapa de cor para excitação e supressão da atividade neuronal.

Para uma melhor visualização da separação espacial entre as subunidades, foi realizada uma subtração das atividades das subunidades *ON* e *OFF* (figura 37A). Dessa forma as cores na evolução temporal *ON - OFF* não indicam uma supressão ou inibição, mas sim as subunidades *ON* e *OFF* em vermelho e azul, respectivamente. Como pode

ser verificado na figura 37A, para os atrasos de tempo até 70 ms as subunidades *ON* e *OFF* apresentam uma elevada sobreposição espacial com uma maior atividade nos mapas *OFF* (estímulos pretos). Essa sobreposição pode ser confirmada pelos cortes que passam pelos pontos de máxima atividade dentro das subunidades e pelos valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial (figura 37B). Contudo, no intervalo de 80 ms até 110 ms é possível perceber a separação espacial entre as subunidades. Essa separação também pode ser confirmada pelos valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial (figura 37C). Se a definição clássica de células simples e complexas proposta por Hubel e Wiesel (1962) fosse aplicada nessa célula, até 70 ms ela possuiria as características de uma célula complexa e à partir de 80 ms ela possuiria a segregação espacial entre suas subunidades característica das células simples. Por meio da comparação dos valores calculados para as métricas de quantificação da sobreposição espacial nos diferentes atrasos de tempo, foi possível verificar que em 16,13% (10/62) de nossa amostra ocorria nitidamente (durante pelo menos três atrasos de tempo) a dinâmica de alternância entre a sobreposição e segregação das subunidades *ON* e *OFF* ao longo do tempo. Contudo, para a grande maioria de nossa amostra 64,51% (40/60) não foi verificada essa variação na dinâmica temporal das subunidades *ON* e *OFF*, os valores calculados para as métricas de quantificação da sobreposição espacial se mantiveram praticamente constantes nos diferentes atrasos de tempo. Para o restante de nossa amostra 19,35% (12/62) os mapas 2D gerados a partir da estimulação com o ruído esparso possuíam pouca atividade evocada ou baixa correlação entre os estímulos e os potenciais de ação. Conseqüentemente os mapas 2D dos campos receptivos dessas células não apresentavam estruturas nítidas de suas subunidades.

Para a verificação da variação da organização espacial das subunidades à partir da utilização de estímulos visuais distintos, os mapas das subunidades foram comparados para um mesmo atraso de tempo quando estimulados com um ruído esparso e denso. Inicialmente, comparando as atividades dos mapas das subunidades *ON* e *OFF* para todos os atrasos de tempo, verificou-se que a estimulação por meio do ruído denso provocou a diminuição das regiões espaciais estatisticamente significativas ( $z$ -score  $> 2,5$ , hipótese bicaudal) para a construção dos mapas (teste Wilcoxon signed rank,  $p \ll 0,01$ ). Outro fato observado foi que a estimulação por meio do ruído denso acarretou um aumento de regiões indicativas de supressão onde eram de excitação quando estimuladas por um ruído esparso.

Em seguida foi verificada a variação espacial dos campos receptivos na construção dos mapas *ON* e *OFF* quando estimulados pelos ruídos esparso e denso. As métricas

de quantificação da sobreposição espacial foram calculadas e comparadas para os atrasos de tempo onde ocorria uma variação significativa na estrutura dos campos receptivos. A figura 38 mostra dois exemplos onde os campos receptivos possuem alta sobreposição entre suas subunidades (características de células complexas) quando estimulados por um ruído esparso. Entretanto ao serem estimulados com um ruído denso apresentam uma segregação entre suas subunidades (características de células simples).

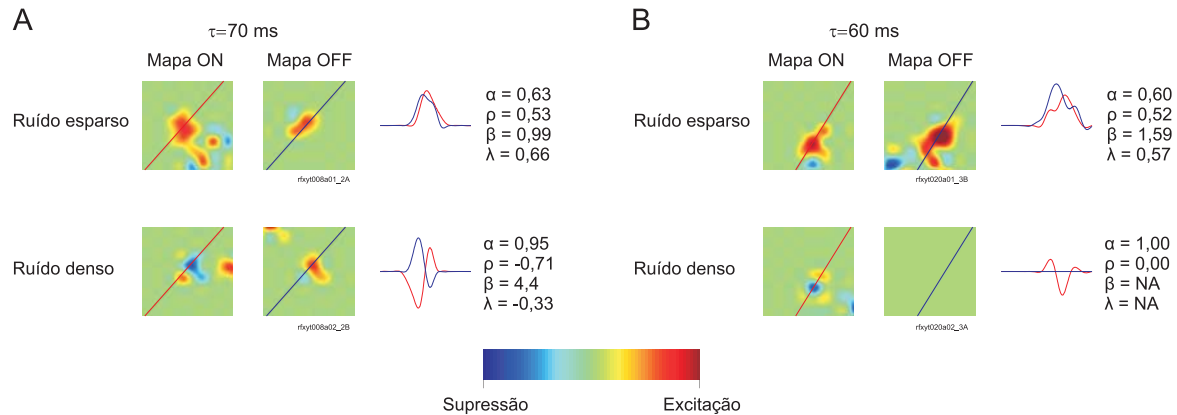


Figura 38: Verificação da variação da organização espacial à partir da estimulação visual por ruído esparso e denso. Ao lado dos mapas estão os respectivos cortes utilizados para os cálculos da métricas  $\beta$  e  $\lambda$ , e os valores encontrados para cada métrica de quantificação da sobreposição espacial. As linhas vermelhas indicam o corte nos mapas *ON* e as linhas azuis o corte nos mapas *OFF*, os cortes passam pelos pontos de máxima atividade dentro das subunidades estimuladas pelos ruídos esparso e denso. A parte inferior da figura indica o mapa de cor para excitação e supressão da atividade neuronal.

Na figura 38A, apesar da sobreposição das subunidades quando a célula foi estimulada com o ruído esparso, observou-se uma segregação das subunidades no campo receptivo quando a célula foi estimulada com um ruído denso. Nota-se também que existe uma inversão na polaridade das subunidades para os mapas *ON* e *OFF* quando o estímulo denso foi aplicado. Essas duas características representam bem as células simples inicialmente descritas por Hubel e Wiesel (1962). A divergência na classificação em simples ou complexa para essa célula é nítida quando analisamos os valores encontrados para as métricas de quantificação da sobreposição espacial. Quando estimulada com um ruído esparso todas as métricas apontam para a classificação da célula como complexa; contudo para a estimulação por meio de um ruído denso as métricas a classificam como simples. Apesar de não ter sido possível construir um mapa *OFF* para a estimulação por meio do ruído denso, na figura 38B é possível verificar, comparando os mapas *ON*, que na região espacial onde só existia excitação para a estimulação com um ruído esparso a célula passa a apresentar regiões de excitação e inibição quando estimulada com um ruído denso. Essa

dicotomia entre excitação e inibição poderia estar associada a uma segregação entre subunidades do campo receptivo. Os comportamentos apresentados pela figura 38 ocorreram em 20,97% (13/62) de nossa amostra. Apesar da estimulação com o ruído denso evocar maior atividade (8,5 spikes/s [6,1 - 13,9]) que com o ruído esparsa (7,0 spikes/s [4,1 - 10,2]) (teste Wilcoxon signed rank,  $p \ll 0,01$ ), essa atividade se mostrou menos correlacionada com o estímulo. Essa baixa correlação ocorreu para quase metade de nossa amostra (48,39% - 30/62) e conseqüentemente os mapas 2D dos campos receptivos dessas células não apresentavam estruturas nítidas de suas subunidades.

## 7 *Discussão geral*

### 7.1 **Resumo dos resultados encontrados**

Nos últimos anos, vários projetos de pesquisa do nosso grupo foram realizados objetivando melhorar o entendimento de como atributos visuais básicos, como, por exemplo, frequências espacial e temporal, tamanho, contraste e direção/velocidade do movimento, são representados a nível celular. As características dessas representações neuronais foram sistematicamente comparadas às representações do córtex visual de mamíferos tendo em vista as similaridades funcionais entre V1 e o wulst visual das corujas.

Neste estudo a linearidade da somação espacial de neurônios do wulst visual de corujas foi inicialmente analisada de forma quantitativa utilizando como estímulo grades senoidais em movimento. Os registros foram feitos extracelularmente por meio de quatro protocolos distintos de estimulação visual. As inferências e resultados encontrados podem ser listados da seguinte forma: 1) A maioria das células encontradas no wulst visual das corujas (83% - 307/369) foi classificada como complexas de acordo com suas modulações das respostas evocadas, e uma minoria classificada como simples. Entretanto aplicando-se um teste estatístico (TFE) foi possível verificar uma componente fásica em mais de um terço das células complexas (35,18% - 108/307); 2) A distribuição das razões  $F_1/F_0$  dos neurônios do wulst visual apresentou uma característica unimodal. Uma possível explicação para essa unimodalidade pode residir em uma transformação mais linear entre o potencial de membrana e o potencial de ação; 3) A linearidade da somação espacial não está correlacionada com a atividade espontânea dos neurônios do wulst visual das corujas, como seria esperado segundo alguns modelos propostos (CHEN et al., 2009; KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002; CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999). Essa falta de correlação indica que a atividade espontânea é um mau preditor da linearidade da resposta neuronal; 4) Foi encontrada uma grande variação na linearidade da somação espacial para baixo e alto contrastes, 7,14% e 98% respectivamente. Algumas células do wulst visual (aproximadamente 1/4 das avaliadas,  $n = 64$ ) apresentaram classificações diferentes para os diferentes contrastes; 5) A



maioria dos neurônios do wulst visual apresenta uma supressão da resposta quando uma grade senoidal em movimento é expandida além do seu campo receptivo clássico. Neste trabalho, encontramos que esse efeito de supressão é, muitas vezes, acompanhado por um aumento significativo de  $F_1/F_0$  (aproximadamente 2/3 das células avaliadas,  $n = 86$ ). 6) As comparações entre as métricas de quantificação da sobreposição espacial se mostraram altamente correlacionadas entre si ( $|r| > 0,80 - p < 0,01$ ), mas fracamente correlacionadas com a linearidade da somação espacial ( $|r| < 0,20 - p \geq 0,15$ ) (LANDIS; KOCH, 1977). 7) Os mapeamentos 2D da organização interna dos campos receptivos mostrou que as localizações espaciais das subunidades *ON* e *OFF* podem se alterar ao longo do tempo ou se configurar de forma diferente dependendo do estímulo visual utilizado. Para 20,97% de nossa amostra (13/62) os campos receptivos se mostraram mais "complexos" quando estimulados com um ruído esparsos e se mostraram mais "simples" quando estimulados com um ruído denso. De modo geral, tendo em vista as variações das modulações das respostas evocadas para diferentes estímulos visuais (grades senoidais) e os diferentes mapas 2D dos campos receptivos obtidos para algumas células à partir da estimulação visual por meio de ruídos esparsos e densos nossos resultados não apoiam a existência de duas classes distintas de células simples/complexas no wulst visual. Eles sugerem ainda que o grau com que cada neurônio do wulst visual atua como um filtro espaço temporal linear depende da combinação específica dos atributos do estímulo.

## 7.2 Células simples e complexas

Neste trabalho, os achados de Pettigrew (1979) foram reavaliados usando um método de classificação mais quantitativo derivado da teoria de sistemas lineares (linearidade da somação espacial -  $F_1/F_0$ ). Por meio desse método, explorou-se também a possibilidade dos campos receptivos das células simples e complexas não serem duas classes distintas, mas sim a representação das extremidades de um contínuo, cuja linearidade de resposta é equilibrada por combinações dos atributos do estímulo visual. De fato, foi demonstrado que a linearidade da somação espacial foi efetivamente modificada pelas características do estímulo sugerindo que a estrutura do campo receptivo pode variar de mais "complexo" para mais "simples" e vice-versa. Além disso, a presença de várias células complexas com uma componente fásica estatisticamente significativa ( $\text{complex}^{F1}$ ) reforça a ideia de um contínuo, em vez de duas classes distintas. O estudo de Pettigrew (1979) foi o primeiro a descrever qualitativamente as estruturas dos campos receptivos dos neurônios do wulst visual da coruja suindara, demonstrando a existência de células simples e complexas com

propriedades semelhantes às de V1 em primatas (HUBEL; WIESEL, 1968) e gatos (HUBEL; WIESEL, 1962). A análise da razão  $F_1/F_0$  confirma a presença de tais classes celulares (Fig. 19), com uma predominância de células complexas (83,2%), quando comparado à células simples (16,8%) (fig. 20). Apesar desses resultados serem compatíveis com o descrito por Pettigrew (1979), em termos de prevalência de células complexas, Pettigrew relata uma proporção mais elevada de células simples (aproximadamente 39%,  $n = 579$ ). Uma possível explicação para essa diferença pode estar na metodologia de registro utilizada por esse autor, a qual consistiu em penetrações parassagitais com o eletrodo movendo-se tangencialmente em relação às camadas do wulst visual. Em relação à razão  $F_1/F_0$ , esse procedimento aumenta a probabilidade do registro de células com as mesmas propriedades de campo receptivo (pertencentes à mesma camada). A figura 39 mostra a organização das camadas do wulst visual da coruja. Sabendo-se que as projeções do NGL atingem a camada granular do wulst (núcleo intersticial externo e interno do HA (KARTEN et al., 1973; PETTIGREW, 1979)) é de se esperar, considerando o modelo hierárquico, uma maior quantidade de células simples nessa camada. Dessa forma, os registros de Pettigrew poderiam realmente possuir maior quantidade de células simples caso a camada granular fosse atingida.

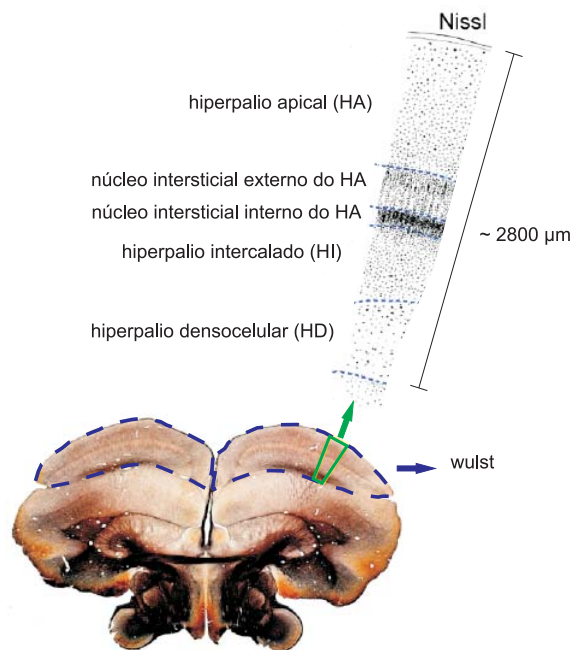


Figura 39: Organização das camadas do wulst visual da coruja. A histologia apresentada (corte coronal no cérebro da coruja) foi corada pelo método de Gallyas (cortesia de Jerome Baron) e a representação esquemática das camadas corada pelo método de Nissl (adaptado de (PETTIGREW, 1979)).

Em nosso estudo a probabilidade de se registrar em uma única camada se torna menor

uma vez que a metodologia de amostragem utilizada nos registros aqui descritos consistiu em efetuar penetrações transversais às camadas do wulst visual.

### 7.3 Distribuição de $F_1/F_0$

A distribuição das linearidades da somação espacial dos neurônios do wulst visual da coruja apresentou uma característica unimodal (fig. 20), diferentemente da distribuição bimodal geralmente relatada em trabalhos com mamíferos (DEVALOIS; ALBRECHT; THORELL, 1982; SKOTTUN et al., 1991; RINGACH, 2002; PRIEBE et al., 2004; IBBOTSON; PRICE; CROWDER, 2005; CHEN et al., 2009). Apesar dessa tendência geral, alguns estudos em mamíferos não encontraram uma distribuição bimodal (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002; MATA; RINGACH, 2005; ROMO et al., 2011). A razão para esses resultados divergentes ainda é incerto. Uma primeira explicação para essa inconsistência seria a utilização de animais em diferentes estados centrais (i.e acordados e anestesiados). De fato, a maioria dos estudos que relataram a bimodalidade foi realizada em animais anestesiados; até o momento, existem apenas dois estudos que analisaram a distribuição de  $F_1/F_0$  em animais acordados: um relatando a bimodalidade (CHEN et al., 2009) e outro a unimodalidade (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002). Sabe-se que os anestésicos podem modificar várias propriedades básicas dos campos receptivos, tais como a seletividade à frequência espacial, orientação e à resposta ao contraste (IKEDA; WRIGHT, 1974; LAMME; ZIPSER; SPEKREIJSE, 1998; SOLOMON; WHITE; MARTIN, 1999). Até que ponto a anestesia influencia especificamente a linearidade de resposta é uma questão que ainda precisa ser esclarecida. Entretanto, um estudo realizado no córtex visual primário (VILLENEUVE; CASANOVA, 2003) mostrou que os anestésicos voláteis (por exemplo, isoflurano e halotano) parecem não afetar o nível de linearidade da somação espacial. Uma segunda possibilidade é a diferença de tamanho das amostras. Em nosso estudo, foram registradas 369 células isoladas, um número relativamente grande em comparação a outros estudos (ver tabela 1 em CHEN et al., 2009) fornecendo uma boa estimativa para a nossa distribuição. Um outro fator importante na discriminação entre distribuições unimodais e bimodais é a sensibilidade do teste de unimodalidade de Hartigan às proporções das classes simples e complexas dentro da amostra. Se uma determinada mostra possui mais células em uma classe do que na outra, o referido teste terá uma baixa probabilidade de detectar a bimodalidade. De fato essa sensibilidade pode ser verificada realizando uma simulação a partir de distribuições com proporções diferentes entre os grupos celulares. A figura 40 exemplifica essa simulação onde as células classificadas como simples e complexas possuem médias de

1,5 e 0,5, respectivamente (ambas com desvio padrão de 0,25).

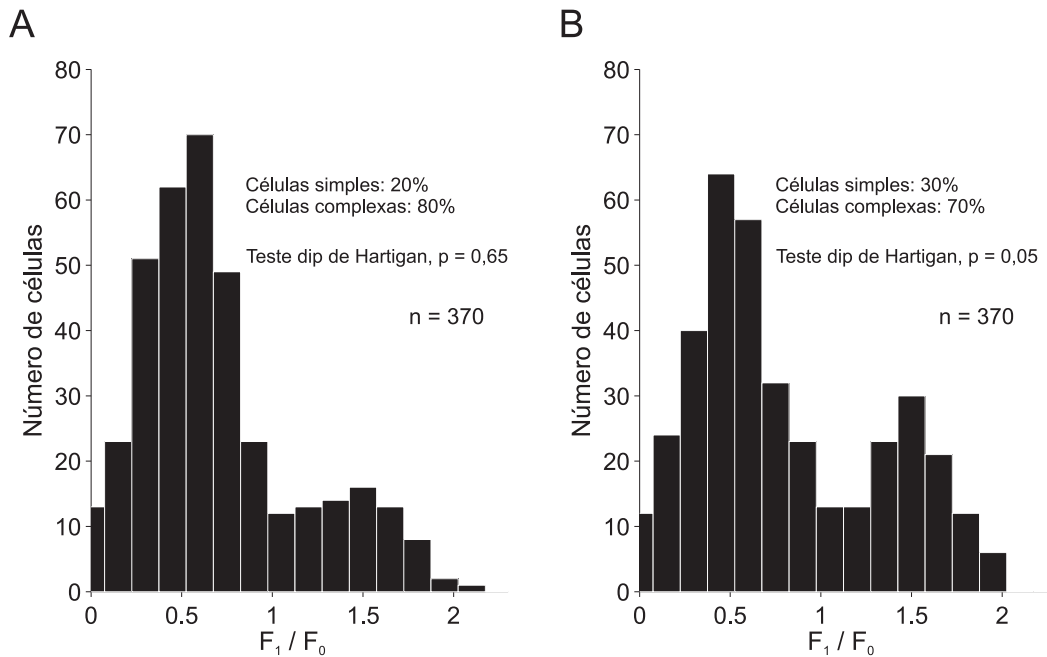


Figura 40: Simulação das distribuições de  $F_1/F_0$  para diferentes proporções de células. Em A e B as células classificadas como simples e complexas possuem médias de 1,5 e 0,5, respectivamente e desvio padrão de 0,25. Em A a proporção entre os tipos celulares é de 20% e 80% e em B de 30% e 70%.

Como pode ser verificado pela simulação da figura 40 o teste de unimodalidade de Hartigan não consegue encontrar uma bimodalidade estatisticamente significativa quando as proporções entre os grupos é de 20 e 80%, por exemplo.

Uma terceira possibilidade para a unimodalidade de nossos dados estaria associada ao posicionamento dos eletrodos (local dos registros). Como já mencionado anteriormente, neste trabalho as penetrações foram realizadas de forma transversal atingindo todas as camadas do wulst visual; por outro lado, por exemplo, no trabalho realizado por Romo e colaboradores (2011) os registros foram realizados em uma área específica encontrando 80% de células simples (área 18 em gatos anestesiados). Uma quarta possibilidade seria o efeito da subtração da atividade espontânea da atividade média ( $F_0$ ). Esse procedimento pode aumentar a linearidade da somação espacial, e conseqüentemente, classificar algumas células como simples. De acordo com Chen e colaboradores (2009) células com altas taxas de atividade espontânea podem gerar uma distribuição mais unimodal. No entanto, em quase todas as células deste trabalho a atividade espontânea é muito pequena, reduzindo a possibilidade desse viés. Finalmente, os diferentes animais utilizados nos trabalhos desenvolvidos na área podem apresentar diferenças biológicas reais entre as

espécies como, por exemplo, diferentes mecanismos envolvidos na emergência das células simples e complexas (DEVALOIS; ALBRECHT; THORELL, 1982; HENRY; HAWKEN, 2013).

Sob a hipótese de que nossos resultados não são predominantemente influenciados por artefatos metodológicos, mas reflete uma verdadeira característica biológica do wulst visual da coruja, uma explicação plausível para a unimodalidade encontrada pode ser uma transformação do potencial de membrana para o potencial de ação mais linear. De acordo com o modelo de limiarização baseado na lei de potência adotado por Priebe e colaboradores (2004), a falta da linearidade expansiva encontrada em nossos dados seria possível assumindo um  $p = 1$  nesse modelo.

## 7.4 O teste F espectral

A abordagem metodológica utilizando o teste F espectral permitiu encontrar um grupo de células complexas com componentes oscilatórios estatisticamente significativas ( $F_1$ ) induzidas pela fase de estímulo, uma característica atribuída unicamente às células simples. A principal vantagem desse método é a sua robustez frente à magnitude da resposta neuronal, especialmente em baixas taxas de disparo. Os baixos níveis de atividade podem aumentar a linearidade da somação espacial ( $F_1/F_0$ ) ao acaso, sem levar em consideração a existência de uma componente fásica significativa ( $F_1$ ). Dessa forma, o teste F espectral se torna uma interessante ferramenta para se detectar e avaliar as modulações das respostas neuronais. De fato, nossos resultados mostraram a presença de uma sensibilidade fásica ao estímulo para todas as células classificadas como simples, como esperado, e para várias células classificadas como complexas (complexas<sup>F1</sup>) com base no método padrão da relação  $F_1/F_0$ . Além disso, essa sensibilidade fásica nas células complexas foi detectada tanto para altos níveis de atividade quanto para baixos (ver tabelas 2 e 3), sugerindo que o aumento na linearidade da somação espacial na baixa atividade não pode ser justificado somente por uma diminuição na atividade média ( $F_0$ ) (ou seja, não é um viés devido à baixa atividade) como proposto por outros autores (HENRY; HAWKEN, 2013). Portanto, o teste F espectral se mostra um método eficiente para avaliar a presença de oscilações significativas nas respostas neuronais. No decorrer deste estudo, um trabalho foi publicado propondo uma alternativa metodológica para medir a força dessas oscilações nas respostas neuronais a partir da estimulação visual com grades senoidais (WYPYCH et al., 2012). Wypycha e colaboradores (2012) também compararam diversas metodologias entre si e com a alternativa proposta por eles. De acordo com os resultados encontrados pelos autores, o teste F espectral se mostrou um teste robusto.

## 7.5 Dependência entre $F_1/F_0$ e as propriedades do estímulo

Em primeiro lugar, à medida que o tamanho do estímulo aumentou além do campo receptivo clássico dos neurônios, observou-se um aumento substancial na linearidade da resposta das células do wulst visual. Esse resultado é consistente com a ideia de que inibições intra-corticais contribuem para a linearidade da somação espacial. De fato, Bardy e colaboradores (2006) relataram que a estimulação dos campos receptivos concomitantemente com seu contorno produzem valores mais altos de  $F_1/F_0$  para os neurônios do córtex visual de gatos. Além disso, eles mostraram que a inativação de retroalimentações excitatórias intra-corticais originárias de regiões visuais superiores (córtex visual póstero-temporal) aumentam a linearidade da resposta de células complexas de V1, como previsto em alguns modelos computacionais (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999; WIELAARD et al., 2001). Portanto, um mecanismo similar poderia estar operando no wulst visual. Com relação ao contraste acromático, apesar de não tão pronunciado quanto na variação do tamanho, também foi possível observar um aumento da linearidade da resposta comparando-se o contraste máximo com o limiar de contraste. Entretanto, o decréscimo do nível de contraste também causou um efeito oposto na linearidade da somação espacial para um número considerável de células, especialmente nas células que possuíam uma componente fásica estatisticamente significativa (células complexas<sup>F1</sup> e simples). Esse resultado levanta a hipótese de que a baixo contraste, o arranjo espacial das subunidades *ON* e *OFF* do campo receptivo podem desenvolver uma organização menos distinta o que causaria a diminuição na linearidade da somação espacial. Essa questão pode ser corroborada pelas constatações do aumento das excitações intra-corticais induzida pelo baixo contraste (MIZOBE et al., 2001; ANGELUCCI; BULLIER, 2003) dando origem a campos receptivos mais parecido ao de células complexas (CHANCE; NELSON; ABBOTT, 1999).

Contudo, a conclusão de que os mecanismos intra-corticais são os principais responsáveis pela variação da linearidade da somação espacial foi questionada por Henry e Hawken (2013). Esses autores atribuíram as modificações nos índices de modulação unicamente à variação da taxa de disparo dependendo dos parâmetros do estímulo. Uma vez que  $F_0$  diminui nas condições de estímulo não ótimas (aqui atribuídas ao baixo contraste e tamanhos de estímulo maiores) é de se esperar um aumento de  $F_1/F_0$  devido ao acaso. Entretanto, nossas análises demonstraram uma variação significativa nos valores de  $F_1$  em algumas células para condições de estimulação não ótimas, sugerindo que o aumento na linearidade da somação espacial não pode ser atribuído unicamente a um viés devido

à diminuição de  $F_0$ . Além disso, o fato de  $F_1/F_0$  de várias células complexas não coincidirem com os valores estimados por um modelo de célula complexa invariante à fase do estímulo (condições não ótimas de estimulação fig. 31A e C) também apoia essa ideia.

## 7.6 Campos receptivos dinâmicos

Estudos prévios no córtex visual de mamíferos reportaram a influência das características do estímulo na estrutura dos campos receptivos (SCENIAK; HAWKEN; SHAPLEY, 2002; MELIZA; DAN, 2006; FOURNIER et al., 2011; ZHU; YAO, 2012; DURAND et al., 2012). Alinhado com os resultados encontrados utilizando a métrica da linearidade da resposta ( $F_1/F_0$ ), ao se realizar o mapeamento dos campos receptivos, foi possível notar a variação dinâmica das estruturas das subunidades dos campos receptivos ao longo do tempo. Essa variação foi verificada aplicando-se as métricas de quantificação da sobreposição espacial (ver seção 3.6.3) mostrando que uma mesma célula pode apresentar sobreposição e segregação na organização de suas subunidades em diferentes instantes de tempo. Outro resultado que mostrou essa dinâmica na organização espacial das subunidades dos campos receptivos foi o mapeamento utilizando diferentes estímulos. Nos resultados encontrados, para algumas células (20,97% (13/62)) de nossa amostra, os campos receptivos se mostraram mais "simples" (segregação espacial entre suas subunidades) quando estimulados com um ruído denso e mais "complexos" (sobreposição espacial entre suas subunidades) quando estimulados com um ruído esparsos. Esses resultados mostraram que os campos receptivos nos neurônios do wulst visual parecem se adaptar dinamicamente às condições de estimulação. Esse último achado também foi relatado em Fournier e colaboradores (2011) no córtex visual de gatos. Similarmente, Zhu e Yao (2012) relataram adaptações parecidas nas subunidades do campo receptivo quando cenas naturais eram utilizadas na estimulação visual.

## 7.7 Relação entre $F_1/F_0$ e as estruturas do campo receptivo

Em nossos resultados as métricas de quantificação da sobreposição espacial se mostraram fortemente correlacionadas entre si, mas fracamente entre a métrica  $F_1/F_0$ . Comparando dois trabalhos desenvolvidos em macacos onde os autores tentaram encontrar relações entre essas métricas realizando os mapeamentos dos campos receptivos no córtex visual primário percebe-se que não existe um consenso (KAGAN; GUR; SNODDERLY, 2002; MATA;

RINGACH, 2005). Mata e Ringach (2005) relataram que as quatro métricas possuíam uma correlação significativa entre si e em relação  $F_1/F_0$ . Todavia, Kagan e colaboradores (2002) não encontraram correlação entre a métrica de quantificação do índice de sobreposição  $\lambda$  e  $F_1/F_0$ . O motivo da discrepância entre esses estudos não é evidente, apesar de Mata e Ringach (2005) sugerirem que a diferença possa ter sido causada pelo estado central do animal (anestesiado VS. acordado). Em outro estudo desenvolvido com musaranhos, os autores também não encontraram uma correlação significativa entre o índice de sobreposição espacial  $\lambda$  e  $F_1/F_0$ . Outro ponto que precisa ser levado em consideração ao se comparar essas métricas é a adaptação dos campos receptivos às condições de estimulação. Como mostrado aqui e em outros trabalhos, essa adaptação pode influenciar a organização espacial das subunidades uma vez que ao se estimular o campo receptivo com uma grade senoidal encobrendo seu CRC, todo o campo receptivo seria excitado ao mesmo tempo. Por outro lado ao se estimulá-lo com um ruído esparso, somente pequenas partes das subunidades dos campos receptivos seriam estimuladas de cada vez. Sendo assim, uma hipótese plausível seria que a estimulação por meio do ruído esparso favoreceria a visualização da segregação espacial entre as subunidades. Isso poderia estar acontecendo em nossos dados, uma vez que a proporção de células simples encontradas por  $F_1/F_0$  foi de 11,48% (7/62) de nossa amostra, enquanto que para a métrica  $\lambda$ , por exemplo, foi de 40,32% (25/62). No trabalho desenvolvido por Veit e colaboradores (2013) essa discrepância também foi relatada como significativamente diferente ( $\lambda$ : 7% da população,  $F_1/F_0$ : 42% da população, teste  $\chi^2$ :  $p < 0,01$ ). Finalmente, se uma célula possui alta sobreposição espacial de suas subunidades segundo as métricas que quantificam esta característica, mas também possui uma preferência acentuada para um dos estímulos de baixa ou alta luminância (barra preta ou branca), é provável que ao se calcular a linearidade da somação espacial à partir da estimulação de uma grade senoidal essa célula possua um valor de  $F_1/F_0$  mais elevado. Nesse caso a célula poderia ser uma *complexa*<sup>F1</sup> ou até mesmo uma célula simples.

## 7.8 Relevância funcional

Se uma célula complexa pode possuir uma componente fásica e essa característica pode mudar dependendo da estatística do estímulo, espera-se que essas células de fato possam representar um contínuo e sua capacidade de decodificar atributos visuais é mais ampla do que as células classificadas unicamente como simples ou complexas. Assim, essas células podem ser configuradas de várias maneiras diferentes no âmbito da visão natural



tornando possível a discriminação de características processadas por células simples (linhas ou arestas) ao mesmo tempo que outras características como a velocidade espacial ou tamanho, por exemplo. Esse multiprocessamento pode ser útil, a fim de aumentar a eficiência no tratamento de informações fazendo a percepção de imagens mais facilmente.

## 8 *Perspectivas de trabalhos futuros*

Os resultados iniciais deste trabalho demonstraram que utilizando a métrica  $F_1/F_0$  as células do wulst visual da coruja podem ser classificadas em simples ou complexas dependendo das condições dos parâmetros do estímulo (grade senoidal variando o tamanho ou o contraste, por exemplo). Sabendo-se desse comportamento dinâmico, o mapeamento 2D dos campos receptivos poderia ser realizado para verificar se a variação do contraste durante o mapeamento pode alterar as características espaciais de suas subunidades. O trabalho de Duran e colaboradores (2012) mostrou que utilizando ruídos esparsos no mapeamento dos campos receptivos a largura do campo diminuía proporcionalmente à diminuição do contraste. Dessa forma poderíamos verificar se essa mesma dinâmica ocorre nas células do wulst visual das corujas utilizando níveis de contraste alto e baixo para a estimulação com o ruído esparsos e denso. Além disso, algumas das células classificadas como complexas apresentaram em suas respostas uma oscilação em fase com a frequência temporal do estímulo (células complexas<sup>F1</sup>). Seria interessante entender melhor como a estrutura interna do campo receptivo dessas células, que apresentam características de células simples e complexas, se organizam ao longo do tempo ou de acordo com a estatística do estímulo. Outra perspectiva de continuidade alinhada às pesquisas desenvolvidas em nosso laboratório seria verificar possíveis adaptações das respostas neurais. Essas adaptações também ajudariam a entender melhor como a estatística do estímulo pode influenciar na organização espacial das subunidades do campo receptivo e seriam verificadas realizando o mapeamentos 2D das suas subunidades logo após a estimulação com grades senoidais ótimas e não ótimas. Outra possibilidade para tentar entender melhor a dependência do estímulo na organização das subunidades dos campos receptivos seria a utilização de cenas naturais. A estimulação com cenas naturais contém múltiplas frequências espaciais e os indícios apresentados por Zhu e Yao (2012) sugerem que o condicionamento a esses estímulos provoca um aumento da similaridade do campo receptivo a um subconjunto de imagens.

## *Referências*

- ABBOTT, L. F.; CHANCE, F. S. Rethinking the taxonomy of visual neurons. *Nature Neuroscience*, v. 5, n. 5, p. 391–392, 2002.
- AHMED, B.; ANDERSON, J. C.; DOUGLAS, R. J.; MARTIN, K. A.; NELSON, J. C. Polyneuronal innervation of spiny stellate neurons in cat visual cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 341, n. 1, p. 39–49, 1994.
- ALLMAN, J.; MIEZIN, F.; MCGUINNESS, E. Stimulus specific responses from beyond the classical receptive field: neurophysiological mechanisms for local-global comparisons in visual neurons. *Annual review of neuroscience*, v. 8, n. 1, p. 407–430, 1985.
- ALONSO, J. M.; MARTINEZ, L. M. Functional connectivity between simple cells and complex cells in cat striate cortex. *Nature Neuroscience*, v. 1, n. 5, p. 395–403, 1998.
- AMORIM, C. S. de. *Invariância ao contraste no wulst visual da coruja-buraqueira Athene cunicularia*. Dissertação (Mestrado) — Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais, 2011.
- ANGELUCCI, A.; BULLIER, J. Reaching beyond the classical receptive field of v1 neurons: horizontal or feedback axons? *Journal of Physiology-Paris*, Elsevier, v. 97, n. 2, p. 141–154, 2003.
- BARDY, C.; HUANG, J. Y.; WANG, C.; FITZGIBBON, T.; DREHER, B. ‘simplification’ of responses of complex cells in cat striate cortex: suppressive surrounds and ‘feedback’ inactivation. *The Journal of Physiology*, v. 574, n. 3, p. 731–750, 2006.
- BARLOW, H. B.; BLAKEMORE, C.; PETTIGREW, J. D. Neural mechanism of binocular depth discrimination. *Journal of Physiology*, v. 193, p. 327–342, 1967.
- BARON, J.; PINTO, L.; DIAS, M. O.; LIMA, B.; NEUENSCHWANDER, S. Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. *European Journal of Neuroscience*, v. 26, p. 1950–1968, July 2007.
- BRAVO, H.; PETTIGREW, J. D. The distribution of neurons projecting from the retina and visual cortex to the thalamus and tectum opticum of the barn owl, *tyto alba*, and the burrowing owl, *speotyto cunicularia*. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 199, n. 3, p. 419–441, 1981.
- BURKE, W.; DREHER, B.; MICHALSKI, A.; CLELAND, B. G.; ROWE, M. H. Effects of selective pressure block of y-type optic nerve fibers on the receptive-field properties of neurons in the striate cortex of the cat. *Vision Neuroscience*, v. 9, p. 47–64, 1992.
- BURNE, R. A.; PARNAVELAS, J. G.; LIN, C. S. Response properties of neurons in the visual cortex of the rat. *Experimental Brain Research*, v. 53, n. 2, p. 374–383, 1984.

- CARANDINI, M.; FERSTER, D. Membrane potential and firing rate in cat primary visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, v. 20, n. 1, p. 470–484, 2000.
- CHALUPA, L. M.; WERNER, J. S. *The Visual Neurosciences*. [S.l.]: MIT Press, 2004. ISBN 0262033089 9780262033084.
- CHANCE, F. S.; NELSON, S. B.; ABBOTT, L. F. Complex cells as cortically amplified simple cells. *Nature Neuroscience*, v. 2, n. 3, p. 277–282, mar 1999. ISSN 1097-6256.
- CHEN, Y.; ANAND, S.; MARTINEZ-CONDE, S.; MACKNIK, S. L.; BERESHPOLOVA, Y.; SWADLOW, H. a.; ALONSO, J.-M. The linearity and selectivity of neuronal responses in awake visual cortex. *Journal of Vision*, v. 9, n. 9, p. 1–17, 2009.
- CHERNICK, M. R. *Bootstrap Methods A Guide for Practitioners and Researchers*. [S.l.]: Wiley-Interscience, 2008.
- COOPER, M. L.; PETTIGREW, J. D. A neurophysiological determination of the vertical horopter in the cat and owl. *The Journal of comparative neurology*, v. 184, n. 1, p. 1–26, mar. 1979. ISSN 0021-9967.
- CREWETHER, D. P.; CREWETHER, S. G.; SANDERSON, K. J. Primary visual cortex in the brushtailed possum: receptive field properties and corticocortical connections. *Brain Behavior Evolution*, v. 24, p. 184–197, 1984.
- CROWDER, N. A.; KLEEF, J. van; DREHER, B.; IBBOTSON, M. R. Complex cells increase their phase sensitivity at low contrasts and following adaptation. *Journal of Neurophysiology*, v. 98, n. 3, p. 1155–1166, 2007.
- CURRAN-EVERETT, D. Explorations in statistics: the bootstrap. *Advances in physiology education*, v. 33, n. 4, p. 286–292, 2009.
- DEAN, A. F.; TOLHURST, D. J. On the distinctness of simple and complex cells in the visual cortex of the cat. *The Journal of physiology*, v. 344, p. 305–325, nov 1983. ISSN 0022-3751.
- DEANGELIS, G. C.; OHZAWA, I.; FREEMAN, R. D. Spatiotemporal organization of simple-cell receptive fields in the cat's striate cortex. i. general characteristics and postnatal development. *Journal of Neurophysiology*, v. 69, n. 4, p. 1091–1117, apr 1993. ISSN 0022-3077.
- DEANGELIS, G. C.; OHZAWA, I.; FREEMAN, R. D. Spatiotemporal organization of simple-cell receptive fields in the cat's striate cortex. ii. linearity of temporal and spatial summation. *Journal of Neurophysiology*, v. 69, n. 4, p. 1118–1135, apr 1993. ISSN 0022-3077.
- DEANGELIS, G. C.; OHZAWA, I.; FREEMAN, R. D. Receptive-field dynamics in the central visual pathways. *Trends in Neurosciences*, v. 10, n. 18, p. 451–458, 2005. ISSN 01662236.
- DEBANNE, D.; SHULZ, D. E.; FREGNAC, Y. Activity-dependent regulation of 'on' and 'off' responses in cat visual cortical receptive fields. *Journal of Physiology*, v. 508, n. 2, p. 523–548, 1998.

- DEVALOIS, R. L.; ALBRECHT, D. G.; THORELL, L. G. Spatial frequency selectivity of cells in macaque visual cortex. *Vision Research*, v. 22, n. 5, p. 545–559, 1982.
- DEVALOIS, R. L.; THORELL, L. G.; ALBRECHT, D. G. Periodicity of striate-cortex-cell receptive fields. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics and image science*, v. 2, n. 7, p. 1115–1123, 1985.
- DOBIE, R. a.; WILSON, M. J. Objective response detection in the frequency domain. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, v. 88, n. 6, p. 516–524, nov 1993. ISSN 0013-4694.
- DOBIE, R. A.; WILSON, M. J. A comparison of t test, f test, and coherence methods of detecting steady-state auditory-evoked potentials, distortion-product otoacoustic emissions, or other sinusoids. *The Journal of the Acoustical Society of America*, v. 100, n. 4 Pt 1, p. 2236–2246, oct 1996.
- DURAND, J.-b.; GIRARD, P.; BARONE, P.; BULLIER, J.; NOWAK, L. G. Effects of contrast and contrast adaptation on static receptive field features in macaque area v1. *Journal of Neurophysiology*, v. 108, n. 7, p. 2033–50, oct 2012. ISSN 1522-1598.
- EFRON, B.; TIBSHIRANI, R. J. *An Introduction to the Bootstrap*. [S.l.]: Chapman Hall, 1993.
- FERSTER, D.; LINDSTROM, S. An intracellular analysis of geniculo- cortical connectivity in area 17 of the cat. *Journal of Physiology*, v. 342, p. 181–215, 1983.
- FIELD, D. J. Relations between the statistics of natural images and the response properties of cortical cells. *Journal of Optical Society of America*, v. 4, n. 12, p. 2379–2394, 1987.
- FITZPATRICK, D. Seeing beyond the receptive field in primary visual cortex. *Current opinion in neurobiology*, Elsevier, v. 10, n. 4, p. 438–443, 2000.
- FOURIER, J. B. J. *Théorie Analytique de la Chaleur*. Cambridge University Press, 2009. Cambridge Books Online. ISBN 9780511693229. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511693229>>.
- FOURNIER, J. *Adaptation of the Simple or Complex Nature of V1 Receptive Fields to Visual Statistics*. Tese (Doutorado) — l'Université Pierre et Marie Curie, Paris - France, 2009.
- FOURNIER, J.; MONIER, C.; LEVY, M.; MARRE, O.; SÁRI, K.; KISVÁRDAY, Z. F.; FRÉGNAC, Y. Hidden complexity of synaptic receptive fields in cat v1. *The Journal of Neuroscience*, v. 34, n. 16, p. 5515–5528, Apr 2014.
- FOURNIER, J.; MONIER, C.; PANANCEAU, M.; FREGNAC, Y. Adaptation of the simple or complex nature of v1 receptive fields to visual statistics. *Nature Neuroscience*, v. 14, p. 1053–1060, 2011. ISSN 1097-6256.
- FREEMAN, R. D. Studies of functional connectivity in the developing and mature visual cortex. *Journal of Physiology*, v. 90, p. 199–203, 1996.

- GILBERT, C. D. Laminar differences in receptive field properties of cells in cat primary visual cortex. *The Journal of Physiology*, v. 268, n. 2, p. 391–421, 1977.
- GLANZMAN, D. L. Spatial properties of cells in the rabbit's striate cortex. *The Journal of Physiology*, v. 340, p. 535–553, 1983.
- GOODWIN, A. W.; HENRY, G. H.; BISHOP, P. O. Receptive fields of single cells and topography in mouse visual cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 160, n. 3, p. 269–289, 1975.
- HARMENING, W. M.; NIKOLAY, P.; ORLOWSKI, J.; WAGNER, H. Spatial contrast sensitivity and grating acuity of barn owls. *Journal of Vision*, v. 9, n. 7, p. 1–12, Jul 2009.
- HARTIGAN, J. A.; HARTIGAN, P. M. The dip test of unimodality. *The Annals of Statistics*, v. 13, n. 1, p. 70–84, 1985.
- HARTIGAN, P. M. Algorithm as 217: Computation of the dip statistic to test for unimodality. *Journal of the Royal Statistical Society, Series , Applied Statistics*, v. 34, n. 3, p. 320–325, 1985.
- HARTLINE, H. K. The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *The American Journal of Physiology*, v. 121, p. 400–415, 1938.
- HENRY, C. A.; HAWKEN, M. J. Stability of simple/complex classification with contrast and extraclassical receptive field modulation in macaque v1. *Journal of Neurophysiology*, v. 109, n. 7, p. 1793–1803, apr 2013. ISSN 1522-1598.
- HIETANEN, M. A.; CLOHERTY, S. L.; KLEEF, J. P. van; WANG, C.; DREHER, B.; IBBOTSON, M. R. Phase sensitivity of complex cells in primary visual cortex. *Neuroscience*, v. 237, p. 19–28, may 2013. ISSN 1873-7544.
- HIRSCH, J. Synaptic physiology and receptive field structure in the early visual pathway of the cat. *Cerebral Cortex*, v. 13, n. 1, p. 63–69, jan 2003. ISSN 1047-3211.
- HOFFMANN, K. P.; STONE, J. Conduction velocity of afferents to cat visual cortex: a correlation with cortical receptive field properties. *Brain Research*, v. 32, p. 460–466, 1971.
- HUBEL, B. Y. D. H.; WIESEL, A. D. T. N. Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *Journal of Physiology*, v. 148, p. 574–591, 1959.
- HUBEL, B. Y. D. H.; WIESEL, A. D. T. N. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology*, v. 160, p. 106–154, 1962.
- HUBEL, D. H.; WIESEL, T. N. Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *Journal of Physiology*, v. 195, n. 1, p. 215–243, 1968. ISSN 0022-3751.
- HURRI, J.; HYVÄRINEN, A. Simple-cell-like receptive fields maximize temporal coherence in natural video. *Neural Computation*, v. 15, n. 3, p. 663–691, 2003.

IBBOTSON, M. R.; PRICE, N. S. C.; CROWDER, N. A. On the division of cortical cells into simple and complex types: a comparative viewpoint. *Journal of Neurophysiology*, v. 93, n. 6, p. 3699–3702, 2005.

ICHIHARA, S.; KITAGAWA, N.; AKUTSU, H. Contrast and depth perception: Effects of texture contrast and area contrast. *Perception*, v. 36, n. 5, p. 686–695, May 2007.

IKEDA, H.; WRIGHT, M. J. Sensitivity of neurones in visual cortex (area 17) under different levels of anaesthesia. *Experimental Brain Research*, v. 20, n. 5, p. 471–484, 1974. ISSN 0014-4819.

IWANIUK, A. N.; HURD, P. L. The evolution of cerebrotypes in birds. *Brain Behavior and Evolution*, v. 65, n. 4, p. 215–230, 2005.

IWANIUK, A. N.; P, H. C.; I, H. M.; R, W. D. Relative wulst volume is correlated with orbit orientation and binocular visual field in birds. *Journal of Comparative Physiology. A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology*, v. 194, n. 3, p. 267–282, Mar 2008.

IWANIUK, A. N.; WYLIE, D. R. The evolution of stereopsis and the wulst in caprimuliform birds: A comparative analysis. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, sensory, neural and behavioral physiology*, v. 192, n. 12, p. 1313–1326, 2006.

JONES, J. P.; PALMER, L. A. The two-dimensional spatial structure of simple receptive fields in cat's visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, v. 58, p. 1187–1211, 1987.

KAGAN, I.; GUR, M.; SNODDERLY, D. M. Spatial organization of receptive fields of v1 neurons of alert monkeys: comparison with responses to gratings. *Journal of Neurophysiology*, v. 88, n. 5, p. 2557–2574, 2002. ISSN 0022-3077.

KARTEN, H. J.; HODOS, W.; NAUTA, W. J.; REVZIN, A. M. Neural connections of the 'visual wulst' of the avian telencephalon. experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). *Vision Research*, v. 150, n. 3, p. 253–278, 1973.

KAY, S. M. *Fundamentals of Statistical Signal Processing: Detection Theory*. New Jersey: Prentice-Hall: Prentice Hall Signal Processing Series, 1998.

KENNEDY, H.; MARTIN, K. Receptive field characteristics of neurones in striate cortex of newborn lambs and adult sheep. *Neuroscience*, v. 10, n. 2, p. 295–300, 1983.

KLEEF, J. P. van; CLOHERTY, S. L.; IBBOTSON, M. R. Complex cell receptive fields: evidence for a hierarchical mechanism. *The Journal of Physiology*, v. 588, n. 18, p. 3457–3470, 2010.

KUFFLER, S. W. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*, v. 16, n. 1, p. 37–68, 1953.

LAMME, V. A.; ZIPSER, K.; SPEKREIJSE, H. Figure-ground activity in primary visual cortex is suppressed by anesthesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 95, n. 6, p. 3263–3268, 1998. ISSN 0027-8424.

- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, v. 33, n. 1, p. 159–174, 1977.
- LATHI, B. P. *Linear Systems and Signals*. [S.l.]: Oxford University Press, 2004.
- LEWICKI, M. S. A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Computation in Neural Systems*, v. 9, n. 4, p. R53–R78, 1998.
- LIMA, B.; SINGER, W.; CHEN, N.-H.; NEUENSCHWANDER, S. Synchronization dynamics in response to plaid stimuli in monkey v1. *Cerebral Cortex*, v. 20, n. 7, p. 1556–1573, 2010. ISSN 14602199.
- LIVINGSTONE, M.; HUBEL, D. Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception. *Science*, v. 240, n. 4853, p. 740–749, 1988.
- MAFFEI, L.; FIORENTINI, A. The visual cortex as a spatial frequency analyser. *Vision Research*, v. 13, n. 7, p. 1255–1267, 1973.
- MALONE, B. J.; RINGACH, D. L. Dynamics of tuning in the fourier domain. *Journal of Neurophysiology*, v. 100, n. 1, p. 239–248, 2008.
- MALPELI, J. G. Activity of cells in area 17 of the cat in absence of input from layer a of lateral geniculate nucleus. *Journal of Neurophysiology*, v. 49, n. 2, p. 595–610, 1983.
- MARTIN, K. A. C.; WHITTERIDGE, D. Form, function and intracortical projections of spiny neurones in the striate visual cortex of the cat. *Journal of Physiology*, v. 353, p. 463–504, 1984.
- MARTINEZ, L.; REID, R. C.; ALONSO, J.; HIRSCH, J. A. The synaptic structure of the simple receptive field. *Society for Neuroscience*, p. 23–28, 1999.
- MARTINEZ, L. M.; ALONSO, J. M. Construction of complex receptive fields in cat primary visual cortex. *Neuron*, v. 32, n. 3, p. 515–525, 2001.
- MARTINEZ, L. M.; ALONSO, J. M. Complex receptive fields in primary visual cortex. *The Neuroscientist*, v. 9, n. 5, p. 317–331, 2003. ISSN 1073-8584.
- MARTINEZ, L. M.; ALONSO, J. M.; REID, R. C.; HIRSCH, J. A. Laminar processing of stimulus orientation in cat visual cortex. *The Journal of Physiology*, v. 540, n. 1, p. 321–333, feb 2002. ISSN 0022-3751.
- MARTINEZ, L. M.; WANG, Q.; REID, R. C.; PILLAI, C.; ALONSO, J.-M.; SOMMER, F. T.; HIRSCH, J. A. Receptive field structure varies with layer in the primary visual cortex. *Nature Neuroscience*, v. 8, n. 3, p. 372–379, 2005. ISSN 1097-6256.
- MATA, M. L.; RINGACH, D. L. Spatial overlap of ON and OFF subregions and its relation to response modulation ratio in macaque primary visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, v. 93, n. 2, p. 919–928, feb 2005. ISSN 0022-3077.
- MECHLER, F.; RINGACH, D. L. On the classification of simple and complex cells. *Vision Research*, v. 42, n. 8, p. 1017–1033, 2002. ISSN 0042-6989.
- MELIZA, C. D.; DAN, Y. Creceptive-field modification in rat visual cortex induced by paired visual stimulation and single-cell spiking. *Neuron*, v. 49, n. 2, p. 183–189, 2006.



- METIN, C.; GODEMENT, P.; IMBERT, M. The primary visual cortex in the mouse: Receptive field properties and functional organization. *Experimental Brain Research*, v. 69, n. 3, p. 594–612, 1988.
- MICHELSON, A. A. *Studies in Optics*. 31 East 2nd Street, Mineola, N.Y.: Dover Publications, 1927.
- MIZOBE, K.; POLAT, U.; PETTET, M. W.; KASAMATSU, T. Facilitation and suppression of single striate-cell activity by spatially discrete pattern stimuli presented beyond the receptive field. *Visual Neuroscience*, v. 18, n. 3, p. 377–391, 2001. ISSN 0952-5238.
- MOVSHON, J. A.; THOMPSON, I. D.; TOLHURST, D. J. Receptive field organization of complex cells in the cat's striate cortex. *The Journal of Physiology*, v. 283, p. 79–99, 1978.
- NASSI, J. J.; CALLAWAY, E. M. Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nature reviews. Neuroscience*, v. 10, n. 5, p. 360–372, 2009.
- NIEDER, A.; WAGNER, H. Horizontal-disparity tuning of neurons in the visual forebrain of the behaving barn owl. *Journal of Neurophysiol*, v. 83, p. 2967–2979, 2000. ISSN 0022-3077.
- NIEDER, A.; WAGNER, H. Encoding of both vertical and horizontal disparity in random-dot stereograms by wulst neurons of awake barn owls. *Visual Neuroscience*, v. 18, n. 4, p. 541–547, 2001. ISSN 1469-8714.
- NIEDER, A.; WAGNER, H. Hierarchical processing of horizontal disparity information in the visual forebrain of behaving owls. *The Journal of Neuroscience*, v. 21, n. 12, p. 4514–4522, 2001.
- OHAYON, S.; HARMENING, W.; WAGNER, H.; RIVLIN, E. Through a barn owl's eyes: interactions between scene content and visual attention. *Biological Cybernetics*, v. 98, n. 2, p. 115–132, February 2008.
- OLSHAUSEN, B. A.; FIELD, D. J. Emergence of simple-cell receptive field properties by learning a sparse code for natural images. *Nature*, v. 381, n. 6583, p. 607–609, 1996.
- OLSHAUSEN, B. A.; FIELDT, D. J. Sparse coding with an overcomplete basis set: a strategy employed by v1. *Vision Research*, v. 37, p. 3311–3325, 1997.
- PETTIGREW, J. D. Binocular visual processing in the owl's telencephalon. *Royal Society of London*, v. 204, n. 1157, p. 435–454, 1979.
- PETTIGREW, J. D.; KONISHI, M. Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual wulst of the barn owl (*tyto alba*). *Science*, n. 193, p. 675–683, 1976.
- PETTIGREW, J. D.; NIKARA, T.; BISHOP, P. O. Responses to moving slits by single units in cat striate cortex. *Experimental Brain Research*, v. 6, n. 4, p. 373–390, 1968.
- PINTO, L.; BARON, J. Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. *European Journal of Neuroscience*, v. 30, n. 7, p. 1251–1268, 2009.

- PINTO, L.; BARON, J. Spatiotemporal frequency tuning dynamics of neurons in the owl visual wulst. *Journal of Neurophysiology*, v. 103, n. 6, p. 3424–3436, 2010.
- PRIEBE, N. J.; CASSANELLO, C. R.; LISBERGER, S. G. The neural representation of speed in macaque area mt/v5. *The Journal of Neuroscience*, v. 23, n. 13, p. 5650–5661, 2003.
- PRIEBE, N. J.; LISBERGER, S. G.; MOVSHON, J. A. Tuning for spatiotemporal frequency and speed in directionally selective neurons of macaque striate cortex. *The Journal of Neuroscience*, v. 26, n. 11, p. 2941–2950, 2006.
- PRIEBE, N. J.; MECHLER, F.; CARANDINI, M.; FERSTER, D. The contribution of spike threshold to the dichotomy of cortical simple and complex cells. *Nature Neuroscience*, v. 7, n. 10, p. 1113–1122, 2004.
- REID, R. C.; ALONSO, J. M. Specificity of monosynaptic connections from thalamus to visual cortex. *Nature*, v. 378, p. 281–284, 1995.
- REID, R. C.; VICTOR, J. D.; SHAPLEY, R. M. The use of m-sequences in the analysis of visual neurons: linear receptive field properties. *Visual Neuroscience*, v. 14, n. 6, p. 1015–1027, 1997.
- RINGACH, D.; SHAPLEY, R. Reverse correlation in neurophysiology. *Cognitive Science*, v. 28, n. 2, p. 147–166, mar 2004. ISSN 03640213.
- RINGACH, D. L. Spatial structure and symmetry of simple-cell receptive fields in macaque primary visual cortex. *Journal of neurophysiology*, v. 88, n. 1, p. 455–463, jul 2002. ISSN 0022-3077.
- RINGACH, D. L. Mapping receptive fields in primary visual cortex. *The Journal of Physiology*, v. 558, n. Pt 3, p. 717–728, aug 2004. ISSN 0022-3751.
- RINGACH, D. L.; SAPIRO, G.; SHAPLEY, R. A subspace reverse-correlation technique for the study of visual neurons. *Vision Research*, v. 37, n. 17, p. 2455–2464, sep 1997. ISSN 0042-6989.
- ROCHA-MIRANDA, C. E.; LINDEN, R.; VOLCHAN E. END LENT, R.; BOMBARDIERI, R. A. J. Receptive field properties of single units in the opossum striate cortex. *Brain Research*, v. 104, n. 2, p. 197–219, 1976.
- ROMO, P. A.; WANG, C.; ZEATER, N.; SOLOMON, S. G.; DREHER, B. Phase-sensitivities, excitatory summation fields and silent suppressive receptive fields of single neurons in the parastriate cortex of the cat. *Journal of Neurophysiology*, v. 106, n. 4, p. 1688–1712, 2011.
- SCENIAK, M. P.; HAWKEN, M. J.; SHAPLEY, R. Contrast-dependent changes in spatial frequency tuning of macaque v1 neurons: effects of a changing receptive field size. *Journal of neurophysiology*, v. 88, n. 3, p. 1363–1373, sep 2002. ISSN 0022-3077.
- SCHILLER, P. H.; FINLAY, B. L.; VOLMAN, S. F. Quantitative studies of single-cell properties in monkey striate cortex. i. spatiotemporal organization of receptive fields. *Journal of Neurophysiology*, v. 39, n. 6, p. 1288–1319, 1976.

- SERIES, P.; LORENCEAU, J.; FRÉGNAC, Y. The “silent” surround of v1 receptive fields: theory and experiments. *Journal of physiology-Paris*, Elsevier, v. 97, n. 4, p. 453–474, 2003.
- SHAMS, L.; MALSBURG, C. von der. The role of complex cells in object recognition. *Vision Research*, v. 42, n. 22, p. 2547–2554, 2002.
- SHAPLEY, R.; HOCHSTEIN, S. Visual spatial summation in two classes of geniculate cells. *Nature*, v. 256, p. 411–413, 1975.
- SHAPLEY, R.; LENNIE, P. Spatial frequency analysis in the visual system. *Annual Review of Neuroscience*, v. 8, n. 1978, p. 547–583, 1985.
- SHIMIZU, T.; BOWERS, A. N. Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behavioural Brain Research*, v. 98, p. 183–191, 1999.
- SIMONCELLI, E. P.; OLSHAUSEN, B. A. Natural image statistics and neural representation. *Annual Review of Neuroscience*, v. 24, p. 1193–1216, 2001.
- SKOTTUN, B. C.; VALOIS, R. L. D.; GROSOFF, D. H.; MOVSHON, J. A.; ALBRECHT, D. G.; BONDS, A. Classifying simple and complex cells on the basis of response modulation. *Vision Research*, v. 31, n. 7-8, p. 1078–1086, 1991. ISSN 0042-6989.
- SNOWDEN, R. J.; STIMPSON, N.; RUDDLE, R. A. Speed perception fogs up as visibility drops. *Nature*, v. 392, p. 450, 1998.
- SOLOMON, S. G.; WHITE, A. J.; MARTIN, P. R. Temporal contrast sensitivity in the lateral geniculate nucleus of a new world monkey, the marmoset callithrix jacchus. *Journal of Physiology*, v. 517, p. 907–917, 1999. ISSN 0022-3751.
- STONE, J.; DREHER, B.; LEVENTHAL, A. Hierarchical and parallel mechanisms in the organization of visual cortex. *Brain Research Reviews*, v. 1, n. 3, p. 345–394, 1979.
- TANAKA, K. Cross-correlation analysis of geniculostriate neuronal relationships in cats. *Journal of Neurophysiology*, v. 49, p. 1303–1318, 1983.
- TAO, L.; SHELLEY, M.; MCLAUGHLIN, D.; SHAPLEY, R. An egalitarian network model for the emergence of simple and complex cells in visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 1, p. 366–371, jan 2004. ISSN 0027-8424.
- TOLHURT, D. J.; MOVSHON, J. A.; DEAN, A. F. The static reliability of signal in single neurons in cat and monkey visual cortex. *Vision Research*, v. 23, n. 8, p. 775–785, 1983.
- TURCHETTI-MAIA, A. L. *Modulação centro-contorno em campos receptivos do wulst visual*. Tese (Doutorado) — Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais, 2011.
- VEIT, J.; BHATTACHARYYA, A.; KRETZ, R.; RAINER, G. On the relation between receptive field structure and stimulus selectivity in the tree shrew primary visual cortex. *Cerebral Cortex*, v. 24, n. 10, p. 2761–2771, oct 2013. ISSN 1460-2199.

- VERHAAL, J.; LUKSCH, H. Mapping of the receptive fields in the optic tectum of chicken (*Gallus gallus*) using sparse noise. *PloS one*, v. 8, n. 4, p. 1–10, jan 2013. ISSN 1932-6203.
- VIEIRA, P. G. *Propriedades das respostas neuronais relacionadas as processamento do contraste no wulst visual da coruja-buraqueira, Athene cunicularia*. Dissertação (Mestrado) — Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais, 2010.
- VIEIRA, P. G. *Efeito do escotoma temporal causado pelo piscar na atividade dos neurônios do wulst visual da coruja*. Tese (Doutorado) — Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais, 2014.
- VIEIRA, P. G.; SOUSA, J. P. M.; BARON, J. Contrast response functions in the visual wulst of the alert burrowing owl: A single-unit study. *The Journal of Neurophysiology*, 2015.
- VILLENEUVE, M. Y.; CASANOVA, C. 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*, v. 129, n. 1, p. 19–31, 2003. ISSN 0165-0270.
- WAGNER, H.; FROST, B. Disparity-sensitive cells in the owl have a characteristic disparity. *Nature*, v. 364, p. 796–798, 1993.
- WAGNER, H.; FROST, B. Binocular responses of neurons in the barn owl's visual wulst. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 174, n. 661, p. 661–670, 1994. ISSN 03407594.
- WIELAARD, D. J.; SHELLEY, M.; MCLAUGHLIN, D.; SHAPLEY, R. How simple cells are made in a nonlinear network model of the visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, v. 21, n. 14, p. 5203–5211, 2001. ISSN 1529-2401.
- WILLIGEN, R. F. van der; FROST, B. J.; WAGNER, H. Depth generalization from stereo to motion parallax in the owl. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 187, n. 12, p. 997–1007, 2002.
- WILLIGEN, R. F. van der; FROST, B. J.; WAGNER, H. How owls structure visual information. *Animal Cognition*, v. 6, n. 1, p. 39–55, 2003.
- WYPYCH, M.; WANG, C.; NAGY, A.; BENEDEK, G.; DREHER, B.; WALESZCZYK, W. J. Standardized f1 - a consistent measure of strength of modulation of visual responses to sine-wave drifting gratings. *Vision Research*, v. 72, p. 14–33, 2012. ISSN 00426989.
- XING, D.; YEH, C.-I.; SHAPLEY, R. M. Generation of black-dominant responses in v1 cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 30, n. 40, p. 13504–13512, 2010.
- YEH, C.-I.; XING, D.; WILLIAMS, P. E.; SHAPLEY, R. M. Stimulus ensemble and cortical layer determine v1 spatial receptive fields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, n. 34, p. 14652–14657, 2009.
- ZHU, Y.; YAO, H. Modification of Visual Cortical Receptive Field Induced by Natural Stimuli. *Cerebral cortex*, p. 1–10, jun 2012. ISSN 1460-2199.

---

ZUREK, P. M. Detectability of transient and sinusoidal otoacoustic emissions. *Ear and hearing*, v. 13, n. 5, p. 307–310, 1992.