

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA**  
**CELULAR**

**BÁRBARA BEGOT OLIVEIRA RISUENHO**

**POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL PSEUDOALEATÓRIO**  
**GERADO POR ESTÍMULOS COMPOSTOS: EFEITO DO MODO DE**  
**APRESENTAÇÃO E DO TEMPO DE ADAPTAÇÃO DA RESPOSTA**

**BELÉM-PA**  
**SETEMBRO, 2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA**  
**CELULAR**

**BÁRBARA BEGOT OLIVEIRA RISUENHO**

**POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL PSEUDOALEATÓRIO**  
**GERADO POR ESTÍMULOS COMPOSTOS: EFEITO DO MODO DE**  
**APRESENTAÇÃO E DO TEMPO DE ADAPTAÇÃO DA RESPOSTA**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Givago da Silva Souza

**BELÉM-PA**  
**SETEMBRO, 2016**

**BÁRBARA BEGOT OLIVEIRA RISUENHO**

**Potencial cortical provocado visual pseudoaleatório gerado por estímulos compostos: efeito do modo de apresentação e do tempo de adaptação da resposta**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Givago da Silva Souza

Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Avaliadores:

Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Fernando Allan Farias Rocha

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Profa. Dra. Karen Renata Matos Oliveira

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

**BELÉM-PA**

**SETEMBRO, 2016**

Dados Internacionais de Catalogação- na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFPA

---

Risuenho, Bárbara Begot Oliveira

Potencial cortical provocado visual pseudoaleatório gerado por estímulos compostos: efeito do modo de apresentação e do tempo de adaptação da resposta / Bárbara Begot Oliveira Risuenho ; Orientador, Givago da Silva Souza. - 2016.

61 f. : il.

Inclui bibliografias

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2016.

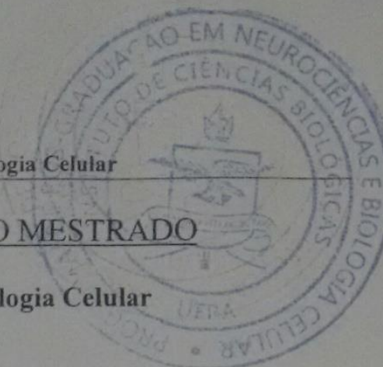
1. Óptica fisiológica. 2. Potencial evocado. 3. Cor - percepção. 4. Eletrofisiologia. I. Souza, Givago da Silva, orientador. II. Título.

CDD – 22 ed. 612.84

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular



## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PARA O MESTRADO

**Programa:** Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular

**Área de concentração:** Neurociências

**Candidata:** Bárbara Begot Oliveira Risuenho

**Tema:** "Potencial cortical provocado visual pseudoaleatório gerado por estímulos compostos: Efeito do modo de apresentação e do tempo de adaptação da resposta."

**Local:** Auditório Núcleo de Medicina Tropical/UFPA

**Data:** 28 de setembro de 2016, às 14h

Após a candidata apresentar os resultados do seu estudo e responder às perguntas dos examinadores, a comissão examinadora reuniu-se e resolveu pela sua:

APROVAÇÃO

REPROVAÇÃO

Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Banca Examinadora deu por encerrado os trabalhos e esta ata foi assinada por todos os membros da comissão examinadora.

Prof. Dr. Givago da Silva Souza  
(Presidente da banca examinadora, sem direito a voto).

Prof. Dr. Fernando Allan de Farias Rocha,  
UFPA.  
(Membro Titular)

Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano  
Oliveira da Silva, UFPA  
(Membro Titular)

Prof. Dra. Karen Renata Matos Oliveira,  
UFPA.  
(Membro Suplente)

## **AGRADECIMENTOS**

A CAPES, ao CNPQ, a UFPA e a FAPESPA pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. Givago da Silva Souza pela orientação e pela amizade.

## RESUMO

O potencial cortical provocado visual convencional (VECP, sigla em inglês) apresenta polaridade positiva em resposta ao modo de apresentação reversa para estímulos cromáticos isoluminantes e estímulos de luminância, enquanto o modo de apresentação onset tem polaridade positiva em resposta a estímulos de luminância, mas negativa em resposta a estímulos cromáticos. Foi avaliado como o modo de apresentação afeta o VECP pseudo-aleatório gerado em resposta a estímulos de luminância e compostos (cromáticos e de luminância). Onze tricromatas normais e 17 voluntários discromatópsicos foram avaliados. Uma sequência-m modulou temporalmente os estímulos de grades senoidais com contraste de luminância e composto tanto para o padrão de apresentação reverso quanto para o onset. Uma rotina de correlação cruzada foi usada para extrair o kernel de primeira ordem (K1) e o primeiro e o segundo slice do kernel de segunda ordem (K2.1 e K2.2, respectivamente) das respostas ao VECP. Calculou-se a integral das amplitudes dos componentes do registro em um intervalo de tempo para a estimar a magnitude do sinal para cada condição de estímulo. Foi utilizada uma correlação cruzada normalizada para restar a similaridade dos componentes do VECP. Para avaliar como o tempo de interação afeta a amplitude do VECP foi calculado o valor quadrático médio (RMS, sigla em inglês) em uma janela temporal e correlacionado com ao intervalo de interação das respostas referentes ao slice do kernel de segunda ordem avaliado. Os componentes do VECP variaram segundo o modo de apresentação e a presença de contraste cromático verde-vermelho nos estímulos. Para os tricromatas, K1, K2.1 e K2.2 do padrão *onset*, bem como K2.1 e K2.2 do padrão reverso nas condições de estimulação composta apresentaram forma de onda predominantemente negativa em 100ms. Para os discromatópsicos, nas mesmas condições, foi observado pequena positividade ou pequena negatividade. Tricromatas apresentaram maior magnitude no VECP do que os discromatópsicos nas condições compostas no padrão *onset* em K1, no padrão *onset* e reverso em K2.1 e no padrão reverso em K2.2. Tricromatas e discromatópsicos tiveram amplitudes similares no VECP em resposta aos estímulos compostos no padrão reverso em K1, no padrão *onset* em K2.2 e em todas as condições de luminância. A correlação cruzada mostrou grande similaridade entre as formas de onda geradas pelo estímulo composto no padrão *onset* em K2.1 e no padrão reverso em K2.2, assim como entre o padrão reverso em K2.1 e K2.2. A amplitude do VECP foi menos quanto maior era o intervalo de interação das respostas. Nós sugerimos que K2.1 do padrão reverso composto é a resposta mais apropriada para o estudo da visão de verde-vermelho.

**Palavras-chave:** Visão de cores, potencial cortical, eletrofisiologia.

## ABSTRACT

Conventional pattern-reversal visual evoked cortical potential (VECP) shows positivity for luminance and chromatic equiluminant stimuli while conventional pattern-onset VECP shows positivity for luminance pattern-onset and negativity for chromatic pattern-onset. We evaluated how the presentation mode affects VECPs elicited by luminance and compound (luminance plus chromatic) pseudo-random stimulation. Eleven normal trichromats and 17 red-green color-blinds were studied. Pattern-reversal and pattern-onset luminance and compound (luminance plus red-green) gratings were temporally modulated by m-sequence. We used a cross-correlation routine to extract the first order kernel (K1) and the first and second slices of the second order kernel (K2.1 and K2.2, respectively) from the VECP response. We integrated the amplitude of VECP components as a function of time in order to estimate its magnitude for each stimulus condition. We also used a normalized cross-correlation method in order to test the similarity of the VECP components. In order to assess how the interreaction time affects the VECP's amplitude we calculate de root mean square (RMS) amplitude into different time windows and correlated it with the response time interval relative to the second order kernel slice avaliated. The VECP components varied with the presentation mode and the presence of red-green contrast in the stimuli. In trichromats, for compound conditions, pattern-onset K1, K2.1, and K2.2, and pattern-reversal K2.1 and K2.2 had negative-dominated waveforms at 100 ms. Small negativity or small positivity were observed in dichromats. Trichromats had larger VECP magnitude than color-blinds for compound pattern-onset K1 (with large variability across subjects), compound pattern-onset and pattern-reversal K2.1, and compound pattern-reversal K2.2. Trichromats and color-blinds had similar VECP amplitude for compound pattern-reversal K1 and compound pattern-onset K2.2, as well as for all luminance conditions. The cross-correlation analysis showed high similarity between waveforms of compound pattern-onset K2.1 and pattern-reversal K2.2 as well as pattern-reversal K2.1 and K2.2. The amplitude of VECP was smaller as higher was the response time interval. We suggest that compound pattern-reversal K2.1 is an appropriate response to study red-green color-opponent activity.

**Keywords:** Color vision, visual evoked potential, electrophysiology.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Esquema de organização das vias paralelas visuais da retina até o V1.	3
<b>Figura 2</b>	Modulação da estimulação composta.	19
<b>Figura 3</b>	Forma de onda média do VECP de indivíduos tricromatas normais para estímulo acromáticos e compostos apresentados nos padrões <i>onset</i> e reverso.	24
<b>Figura 4</b>	Forma de onda média do VECP de indivíduos com fenótipo deutan para estímulos acromáticos e compostos apresentados nos padrões <i>onset</i> e reverso.	26
<b>Figura 5</b>	Forma de onda média do VECP de indivíduos com fenótipo protan para estímulos acromáticos e compostos apresentados nos padrões <i>onset</i> e reverso.	27
<b>Figura 6</b>	Magnitude das respostas corticais geradas por estímulos de luminância em indivíduos tricromatas normais e discromatópsicos.	28
<b>Figura 7</b>	Magnitude das respostas corticais geradas por estímulos compostos em indivíduos tricromatas normais e discromatópsicos.	29
<b>Figura 8</b>	Forma de onda média de VECP de indivíduos tricromatas para estímulos acromáticos e compostos apresentados no padrão reverso.	31
<b>Figura 9</b>	Decaimento do sinal de uma única janela temporal em função do intervalo de interação entre duas respostas.	33
<b>Figura 10</b>	Coefficiente angular da reta e tempo de desaparecimento da resposta para uma única janela temporal.	34
<b>Figura 11</b>	Decaimento do sinal em duas janelas temporais em função do intervalo entre respostas.	35
<b>Figura 12</b>	Coefficiente angular da reta e tempo de desaparecimento em duas janelas temporais.	

## LISTA DE ABREVIATURAS

CIE	<i>Commission Internationale de l'Eclairage</i>
NGL	Núcleo Geniculado Lateral
L	<i>Long-wavelength</i>
M	<i>Medium-wavelength</i>
S	<i>Short-wavelength</i>
HMC	<i>Heidelber Multi Color</i>
ISCEV	<i>International Society of Clinical Electrophysiology os Vision</i>
K1	<i>Kernel de primeira ordem</i>
K2.1	Primeiro slice do <i>kernel</i> de segunda ordem
K2.2	Segundo <i>slice</i> do <i>kernel</i> de segunda ordem
ERG	Eletrorretinografia
RMS	<i>Root mean square</i>

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
1.1. AS VIAS PARALELAS DE PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO VISUAL	12
1.2. PROCESSAMENTO PARALELO E POTENCIAIS CORTICAIS PROVOCADOS	16
1.3. CONTRASTE COMPOSTO DE LUMINÂNCIA E COR	18
1.4. POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL E ESTIMULAÇÃO PSEUDOALEATÓRIA	21
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
2.1. OBJETIVO GERAL	24
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>25</b>
3.1. SUJEITOS	25
3.2. TESTES PSICOFÍSICOS	25
<b>3.2.1. Teste das placas pseudoisocromáticas de Ishihara</b>	<b>25</b>
<b>3.2.2. Cambridge Colour Test</b>	<b>26</b>
<b>3.2.3. Teste de anomaloscopia espectral</b>	<b>27</b>
3.3. POTENCIAL PROVOCADO VISUAL PSEUDO-ALEATÓRIO	28
<b>3.3.1. Estimulação</b>	<b>28</b>
<b>3.3.2. Registro eletrofisiológico</b>	<b>31</b>
<b>3.3.3. Análise dos dados</b>	<b>31</b>
a) Estimativa da magnitude das respostas	31
b) Avaliação da similaridade entre as formas de onda do VECP	31
c) Variação da amplitude do VECP em função do tempo de interação das respostas	32
d) Análise estatística	32
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>33</b>
4.1. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO MODO DE APRESENTAÇÃO SOBRE O POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL PSEUDO-ALEATÓRIO	33
<b>4.1.1. Tricromatas normais</b>	<b>33</b>
<b>4.1.2. Voluntários discromatópicos</b>	<b>33</b>

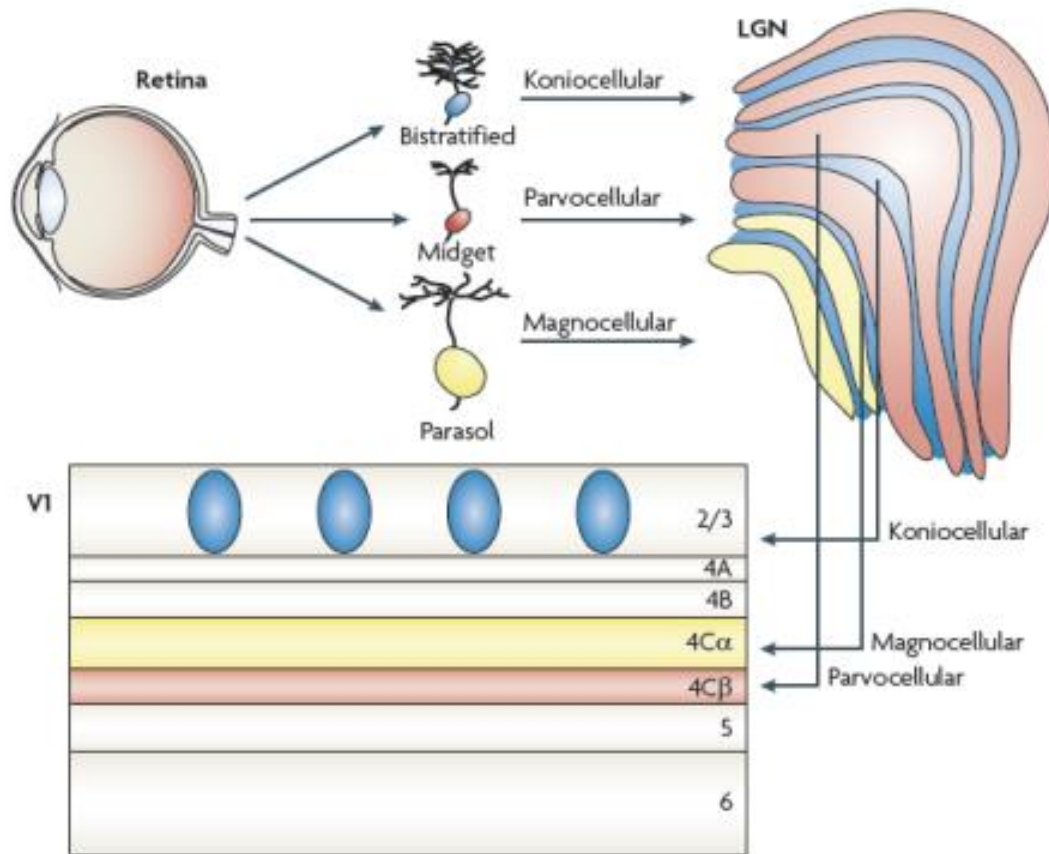
<b>4.1.3.</b>	<b>Correlação da magnitude da resposta entre tricromatas normais e discromatópicos</b>	<b>36</b>
<b>4.1.4.</b>	<b>Correlação cruzada entre as formas de onda do VECP de voluntários tricromatas normais</b>	<b>41</b>
<b>4.2.</b>	<b>AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DA AMPLITUDE DO VECP GERADO POR PADRÃO REVERSO EM FUNÇÃO DO TEMPO ENTRE AS DUAS REPSOSTAS GERADORAS DE UM DETERMINADO <i>SLICE</i> DO <i>KERNEL</i> DE SEGUNDA ORDEM</b>	<b>41</b>
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>48</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>51</b>
<b>7.</b>	<b>PRODUÇÃO CIENTÍFICA ORIUNDA DESTA DISSERTAÇÃO</b>	<b>52</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>53</b>
	<b>ANEXO I</b>	<b>62</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. AS VIAS PARALELAS DE PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO VISUAL

Diversos trabalhos de registro unitário de neurônios retinianos (Hubel & Wiesel, 1960; Gouras, 1968; de Monasterio & Gouras, 1975; de Monasterio et al., 1975a,b; Bobak et al., 1984; Kaplan & Shapley, 1986; Lee et al., 1989a,b,c, 2000; Silveira et al., 1999), talâmicos (De Valois, 1960; Hubel & Wiesel, 1960; Jacobs & De Valois, 1965; Wiesel & Hubel, 1966; Kaplan et al., 1982; Derrington & Lennie, 1984; Derrington et al., 1984) e corticais (Hubel & Wiesel, 1968; Gross et al., 1969, 1972) estabeleceram os diferentes mecanismos existentes na via visual de primatas. Em particular, os experimentos conduzidos por Kaplan e Shapley (1982, 1986) mostraram a presença de duas classes de neurônios, uma com baixa sensibilidade ao contraste e outra com alta sensibilidade ao contraste tanto na retina (Kaplan & Shapley, 1986) quanto no NGL (Kaplan & Shapley, 1982). Esses trabalhos revelaram que o sistema visual é constituído por neurônios com propriedades morfofuncionais semelhantes formando circuitos neurais que se estendem através das camadas da retina, do NGL e de V1. Foram identificadas duas classes diferentes de células ganglionares, as células fásicas e tônicas descobertas por Gouras (1968), que projetam respectivamente para as camadas magnocelulares e parvocelulares do NGL; por sua vez as células talâmicas dessas camadas projetam respectivamente para as camadas 4C $\alpha$  e 4C $\beta$  de V1. Esses neurônios retinianos e talâmicos têm sido chamados de células M e P, respectivamente, e as vias retino-genículo-corticais que eles integram têm sido chamadas de vias M e P, a primeira com alta sensibilidade ao contraste e a segunda com baixa sensibilidade ao contraste (Kaplan & Shapley, 1982, 1986; Shapley & Perry, 1986).

Os resultados de diversos outros trabalhos de registro de células retinianas, talâmicas e corticais mostraram que existem outras vias retino-genículo-corticais. A mais bem estudada delas é originada das células ganglionares biestratificadas pequenas e de outras classes de células ganglionares que têm em comum com aquelas o fato de apresentarem respostas originadas nos cones S (Silveira et al., 1999; Dacey & Lee, 1994; Dacey & Packer, 1993; Dacey et al., 2003, 2005; Szmajda et al., 2008). Essas células projetam para as camadas koniocelulares do NGL (Dacey & Packer, 1993; Dacey et al., 2003, 2005; Szmajda et al., 2008) e as células koniocelulares talâmicas com sinais oriundos dos cones S, por sua vez, projetam para a camada 4A de V1 (Chatterjee & Callaway, 2003). Esses neurônios fazem parte da chamada via K, uma vez que a estação de retransmissão da informação retiniana está localizada nas camadas koniocelulares do NGL. Entretanto, a via K, diferentemente das vias M e P, é heterogênea, constituída por diversas classes celulares tanto na retina (Dacey & Packer, 1993; Dacey et al., 2003, 2005; Szmajda et al., 2008), como no NGL (Szmajda et al., 2008) e diversos sítios de projeção cortical (Chatterjee & Callaway, 2003; Sincich et al., 2004). Nem todas essas classes celulares recebem informação dos cones S e, certamente, desempenham funções distintas na visão. A Figura 1 mostra um resumo esquemático da organização das vias paralelas visuais de retina ao córtex visual primário.



**Figura 1.** Esquema de organização das vias paralelas visuais da retina até o V1. Via M ou magnocelular em amarelo. Via P ou parvocelular em vermelho. Via K ou koniocelular em azul.

Que relação esses diversos circuitos neurais guardam com os canais de processamento de contraste de luminância e contraste de cor mencionados acima? A partir das propriedades funcionais dos neurônios que têm sido investigadas com estimulação visual e registro eletrofisiológico de unidades isoladas na retina e no tálamo, a hipótese mais aceita é de que o canal de contraste de luminância seja mediado exclusivamente pela via M nas proximidades do limiar, uma vez que essas células são as mais sensíveis a esse tipo de contraste (Lee et al., 1989a,b,c). Entretanto, a resposta das células M satura acentuadamente em níveis altos de contraste de luminância, de tal forma que quando elas são estimuladas com diferentes níveis de contraste alto a frequência de impulsos nervosos produzidos por elas é semelhante. Em outras palavras, as células M deixam de diferenciar eficientemente um contraste de outro nessa faixa mais alta de contrastes. Assim, é possível que células com menor sensibilidade ao contraste de luminância, como as células P, cujas respostas não saturam significativamente em contrastes altos, contribuam para o canal de luminância nesse nível (Kaplan & Shapley, 1982, 1986; Lee et al., 1989a,b,c, 2000; Silveira et al., 1999). Finalmente, em certas condições é possível ainda que algumas classes de células K possam contribuir para o canal de luminância.

Para medir o contraste de luminância na visão fotópica, essas diversas células precisam usar os sinais provenientes de pelo menos algumas das três classes de cones existentes na retina – M, L e S. As células ganglionares e talâmicas M, P e K têm acesso aos sinais dos cones M e L. Por outro lado, aparentemente apenas certas células K têm acessos aos sinais provenientes dos cones S e é ainda controverso em que medida esses cones contribuem para a visão de contraste de luminância em níveis fotópicos. Na visão escotópica, as células que medem contraste de luminância precisam receber os sinais da única classe de fotorreceptores que opera nesses níveis, os bastonetes; tanto as células M quanto as P recebem informação provinda dos bastonetes.



O canal de contraste azul-amarelo depende da atividade das células que têm acesso aos sinais dos cones S (Dacey & Packer, 1993; Dacey et al., 1993, 2005). Na retina essas células compreendem as células biestratificadas pequenas e as células biestratificadas grandes, com oponência S-(M+L), assim como as células monoestratificadas grandes esparsas e as células monoestratificadas gigantes esparsas com melanopsina, com oponência (M+L)-S (Chatterjee & Callaway, 2003). Nas camadas koniocelulares do NGL, para onde essas células projetam, existem neurônios talâmicos com respostas semelhantes (Martin et al., 1997; Szmajda et al., 2006). Da mesma forma, na camada 4A de V1 também existem neurônios que respondem com oponência de cor S-(M+L) e (M+L)-S. Assim, existe um circuito retino-genículo-cortical responsável pela transmissão dos sinais oriundos dos cones S, o qual compara a atividade desses cones com o somatório da atividade das outras duas classes de cones e que representa o substrato para o canal de contraste de cor azul-amarelo (Mollon & Jordan, 1988).

Finalmente as células ganglionares, talâmicas e corticais da via P são os únicos neurônios no sistema visual do homem e de outros primatas capazes de medir o contraste de cor verde-vermelho (Shapley & Perry, 1986; Lee et al., 1989a,b). Acredita-se que evolucionariamente essas células originalmente eram devotadas a sinalizar contraste de luminância nos níveis mais altos, onde a atividade das células M satura, e tornaram-se codificadas para cor a partir das mutações genéticas (mutação puntiforme gênica e duplicação gênica) que ocorreram nos primatas e que originaram a presença de duas classes de cones, em vez de uma como acontece nos demais mamíferos, com pico de sensibilidade nas regiões verde e amarela do espectro luminoso (Mollon & Jordan, 1988).

## 1.2. PROCESSAMENTO PARALELO E POTENCIAIS CORTICAIS PROVOCADOS.

O que significam as não linearidades relacionadas à variação da amplitude do VECP em função do contraste do estímulo visual? É possível manipular os diversos aspectos do estímulo e a análise do sinal elétrico de tal forma a isolar a atividade provocada pelos diversos canais de processamento visual, M, P e K? Nakayama e Mackeben (1982) e Bobak et al. (1984) foram os primeiros a sugerir que a dupla tendência linear que descreve a amplitude do VECP em função do contraste seria devida à atividade diferencial de duas ou mais vias visuais. A tendência de alto contraste seria gerada pela atividade de uma via com menor sensibilidade ao contraste, enquanto a tendência presente em baixos contrastes seria dependente da atividade de uma via visual com maior sensibilidade ao contraste. Valberg e Rudvin (1997) e Rudvin et al. (2000) ao estudar a sensibilidade ao contraste temporal de luminância sugeriram que o VECP em altos contrastes era gerado por atividade da via P, enquanto o VECP em baixos contrastes recebia contribuição apenas da via M.

Souza et al. (2007) estudaram a sensibilidade ao contraste espacial de luminância em diferentes frequências espaciais. Eles observaram que em frequências espaciais baixas a amplitude do VECP saturava em altos contrastes, ou seja, por mais que o contraste do estímulo fosse aumentado, a amplitude do VECP não aumentava. O mesmo achado foi encontrado por Zemon e Gordon (2006), usando uma metodologia diferente. A saturação da resposta a aumento de contrastes é uma característica de células ganglionares M da retina e do NGL. Em frequências espaciais médias e altas (2-10 ciclos por grau) a dupla tendência descrevia a resposta em função do contraste do estímulo, conclusão semelhante à de Valberg e colaboradores (Valberg & Rudvin, 1997; Rudvin et al., 2000).

Em trabalho posterior, Souza et al. (2008) estudaram a amplitude do VECP em função do contraste de luminância, estimulando o sistema visual com

diferentes modos de apresentação: padrão reverso e padrão onset / offset, frequência espacial de 2 ciclos por grau. No modo de apresentação com padrão reverso as faixas claras e escuras de um estímulo em rede senoidal trocam de lugar entre si sem alteração do contraste, da luminância média e da cromaticidade média; enquanto no modo de apresentação onset /offset uma rede com certo contraste espacial de luminância aparece e desaparece sobre um fundo homogêneo cujas cromaticidade e luminância médias são as mesmas do estímulo em rede. Nos resultados obtidos por Souza et al. (2008), a dupla tendência descreveu apenas a mudança da amplitude do VECP gerado por padrões reversos, enquanto a presença de saturações caracterizaram as respostas corticais geradas por padrões onset / offset. Os autores sugeriram que o VECP obtido com padrões reversos recebe contribuições tanto da via P, em altos contrastes, quanto da via M, em baixos contrastes, enquanto a via M contribui isoladamente para o VECP obtido com padrões onset / offset.

A aplicabilidade clínica do registro do VECP, uma forma de eletroencefalografia de eventos, sempre foi uma das principais razões para seu uso, apesar do conhecimento limitado sobre o real significado das respostas provocadas pelas diferentes formas de estimulações. Com o conhecimento básico adquirido nos últimos vinte anos sobre a organização morfofuncional de primatas, aprimorando e aprofundando os primeiros resultados obtidos a partir da década de cinquenta, é possível hoje interpretar com mais precisão os resultados obtidos com o VECP, especialmente na investigação da sensibilidade ao contraste, criando-se expectativa de novas descobertas sobre a natureza da própria resposta cortical provocada e de sua aplicação clínica.

### 1.3. CONTRASTE COMPOSTO DE LUMINÂNCIA E COR

Uma cena visual real é caracterizada por objetos que podem variar em intensidade luminosa, cor, tamanho, textura e posição no tempo e no espaço. O sistema visual apresenta uma série de neurônios em diferentes estágios de processamento que respondem para esses parâmetros isoladamente ou em conjunto. Dentre os diferentes aspectos da informação visual, a manipulação dos contrastes de cor e de luminância tem sido realizada com grande frequência em experimentos com humanos e outros primatas para compreender como os diferentes estágios do processamento visual codificam estas informações.

Há pelo menos duas teorias que buscam explicar como as informações de cor e luminância são transmitidas ao longo das vias visuais. Em uma delas sugere-se que as células ganglionares P e K iniciam e transmitem os sinais oponentes verde-vermelhos e azul-amarelos, respectivamente, para o NGL e V1. Já as células da via M codificariam as informações de contraste de luminância. A outra hipótese é que a via P assim como a via M retransmitem os sinais de luminância juntamente com os sinais de cor. Ambas as propostas têm recebido suporte experimental e ainda se mantêm controversas.

Comumente, os estudos psicofísicos e eletrofisiológicos que buscam inferir a contribuição dessas vias paralelas para a percepção de luminância e cor, utilizam estímulos que isolam o contraste de luminância dos contrastes de cor e vice-versa. Uma nova abordagem de investigar as vias responsivas de cor e luminância foi sugerida e implementada por Lee et al. (2011) em estudos de registro eletrofisiológico em células ganglionares de macaco e estudos psicofísico em humanos. Nesse estudo, os autores usaram estímulos compostos no qual há presença simultânea de contraste de cor e contraste de luminância. O componente de luminância do estímulo apresentava a frequência espacial e temporal duplicada em comparação ao componente de cor. Os autores observaram que as células P respondiam ao estímulo composto da mesma forma

que respondiam para os estímulos puramente cromáticos, enquanto as células M respondiam para os estímulos compostos da mesma forma como respondiam para os estímulos de luminância.

Posteriormente, outros estudos estenderam as investigações da resposta a estímulos compostos usando eletrorretinografia (Parry et al., 2012), registros celulares no córtex visual primário (Li et al., 2014) e psicofísica visual (Cooper et al., 2012). Parry et al. (2012) mostraram que o primeiro harmônico do ERG de humanos tricromatas em resposta a estímulos compostos apresentava sintonia temporal passa-baixa refletindo a contribuição de mecanismos pós-receptoriais semelhantes àqueles apresentados pelas células ganglionares P. Essa proposta foi reforçada pela baixa amplitude do ERG de sujeitos dicromatas. Em todos os sujeitos, tricromatas e dicromatas, o segundo harmônico da resposta do ERG a estímulos compostos apresentou sintonia temporal passa-banda semelhante às células M. Li et al. (2012) observaram que em V1 as células responderam principalmente para o componente cromático dos estímulos compostos, assim como outras células responderam principalmente para o componente de luminância dos estímulos compostos. Além disso, os autores observaram que algumas células apresentavam respostas tanto para o componente cromático (primeiro harmônico) quanto para o componente de luminância (segundo harmônico) dos estímulos compostos. Os autores concluíram que V1 possivelmente combina os sinais das vias M e P para aumentar a diversidade de campo receptivo e otimizar o processamento visual de imagens naturais.

Lee et al. (2011) e Cooper et al. (2012) estimaram a sensibilidade ao contraste para diferentes estímulos compostos e compararam os resultados com o obtido para estímulos puramente cromáticos ou de luminância. Eles observaram que o limiar estimado para os estímulos compostos seguia o mecanismo mais sensível, de luminância ou de cor, em uma determinada frequência espacial.

Assim, o uso de estímulos compostos representa uma forma interessante para estudar as respostas neuronais e perceptuais às interações entre cor e luminância. Além disso, os estímulos compostos compreendem uma família de estímulos que combinam contraste de cor e contraste de luminância, possibilitando várias formas de testar hipóteses sobre o processamento de cor e luminância no sistema visual.

#### 1.4. POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL E ESTIMULAÇÃO PSEUDOALEATÓRIA

Utilizando estimulação pseudo-aleatória é possível provocar potenciais corticais predominantemente negativos em resposta a estímulos cromáticos isoluminantes, tanto com padrões de estimulação reversa quanto *onset* (Gerth et al., 2003). Tais achados diferem daqueles obtidos com estimulação periódica tradicional (Carden et al., 1985; Suttle and Harding, 1999). Quando estimulação tradicional periódica é utilizada, estímulos de redes senoidais provocam respostas positivas em torno de 100 ms para o padrão reverso tanto cromático quanto acromático, bem como para o padrão *onset* acromático, enquanto estimulação *onset* cromático gera respostas negativas em torno da mesma latência (Carden et al., 1985; Kulikowski E Parry, 1987; Murray et al., 1987; Kulikowski et al., 1989). Uma vez que o potencial cortical provocado visual (VECP, siga em inglês de *visual evoked cortical potential*) cromático do padrão *onset* normalmente apresenta maior relação sinal-ruído comparado com a resposta ao padrão reverso cromático e também apresenta polaridade inversa em relação ao estímulo *onset* acromático, essa forma de estimulação foi amplamente utilizada para estudar mecanismos transientes de VECP cromático (Carden et al., 1985; Kulikowski and Parry, 1987; Murray et al., 1987; Berninger et al., 1989; Kulikowski et al., 1989, 1996; Rabin et al., 1994; Porciatti and Saturcci, 1999; Gomes et al., 2006, 2008, 2010; Souza et al., 2008).

McKeefry et al. (1996) discutiram acerca da ativação de mecanismos cromáticos e acromáticos pelos padrões de estimulação reverso e *onset*. Eles basearam suas sugestões nas características das respostas de células tônicas e fásicas do sistema visual (Gouras, 1968; Dreher et al., 1976; Kaplan e Shapley, 1982, 1986; Hicks et al., 1983). Eles consideraram que para algumas condições seletivas de estimulação a dicotomia entre células tônicas/sustentadas e células fásicas/transientes se sobrepunham às atividades das vias magnocelular (acromática) e parvocelular (cromática), respectivamente. Células tônicas apresentam respostas maiores para a fase *onset* do estímulo do que para a fase *offset* devido à resposta sustentada se manter enquanto o estímulo estiver na tela e apresentam baixa responsividade ao contraste reverso modulado temporalmente por ondas quadráticas devido à natureza sustentada da sua resposta. Células fásicas apresentam respostas similares para o aparecimento e para o desaparecimento do estímulo devido sua resposta ser transiente, mas apresentam respostas maiores para estimulação reversa com modulação temporal quadrática. McKeefry et al. (1996) descobriram que o VECP cromático *onset-offset* é dominado por um componente fundamental, enquanto o VECP *onset-offset* acromático apresenta um segundo harmônico adicional ao componente fundamental. Para o VECP reverso, tanto as respostas cromáticas quanto acromáticas, apresentam altos segundos harmônicos, que tem pico em condições acromáticas de estimulação e mínimo em condições cromáticas isoluminantes.

Até agora apenas campos homogêneos ou padrões complexos foram utilizados para compor estímulos pseudo-aleatórios para investigar respostas corticais cromáticas em diferentes setores do campo visual (Baseler e Sutter, 1997; Gerth et al., 2003). Para visão espacial, adicionalmente ao estímulo de tabuleiro de dardos (Baseler e Sutter, 1997), um estímulo composto por uma matriz de triângulos também foi utilizado

para provocar atividade cortical em estudos de VECP multifocal (Gerth et al., 2003). Padrões de triângulos foram utilizados para reduzir os componentes de alta frequência espacial presentes em outras formas de estimulação. Entretanto, é difícil fazer associações diretas entre as propriedades espaciais do padrão de triângulos ou do dartboard e aquelas das ondas senoidais. Ondas senoidais são os estímulos mais simples utilizados para estudar visão espacial e foram amplamente utilizados em eletrofisiologia intra e extracelular, bem como eletrofisiologia não invasiva e psicofísica (e.g., Carden et al., 1985; Mullen, 1985; Lee et al., 1989).

Gerth et al (2003) mostraram que o VECP cromático pseudo-aleatório tinha a mesma polaridade independentemente do modo de apresentação utilizado para suscitar respostas corticais, mas em seus estudos faltam a comparação com o VECP acromático. Baseando-se nos achados dos efeitos do padrão de apresentação no VECP convencional é esperado que VECP com diferentes formas de ondas fossem gerados em observados tricromatas quando utilizados estímulos pseudo-aleatórios cromáticos e acromáticos, assim como observados com perdas da visão de cores teriam respostas aos estímulos cromáticas diminuídas ou ausentes.

Alguns estudos indicam que o uso de análises não lineares com separação da resposta visual em diferentes estágios de adaptação (*kernels*) permitem a investigação de mecanismos na resposta cortical com diferentes propriedades fisiológicas distribuídas entre os diferentes kernels (Crewther & Crewther, 2010; Araújo et al., 2013). No presente estudo, nós aplicamos o paradigma de Gerth et al (2003) usando ondas senoidais para avaliar como o modo de apresentação afeta o VECP pseudo-aleatório cromático e acromático. Respostas obtidas de voluntário tricromatas e discromatópsicos foram comparadas.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Investigar a existência de mecanismos fisiológicos em diferentes *kernels* do potencial cortical provocado visual provocados à partir de estímulos de contraste de cor e luminância.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar o efeito do modo de apresentação e do tipo do contraste na forma de onda do potencial cortical provocado visual aleatório em sujeitos tricromatas normais e discromatópsicos.

Avaliar a variação da amplitude em função do tempo de interação entre as respostas corticais ao estímulo aleatório.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. SUJEITOS**

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comit  de  tica em pesquisa com seres humanos do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (protocolo #23/2011). Após serem esclarecidos sobre os objetivos dessa pesquisa, todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Compuseram a amostra 28 sujeitos, sendo que 11 dos voluntários tinham o fenótipo de tricromatas normais ( $21,28 \pm 1,86$  anos de idade) quando avaliada a visão de cores pela anomaloscopia HMC, *Cambridge Colour Test* e placas pseudoisocrom ticas de Ishihara e 17 dos voluntários tinham o fenótipo discromat psico para o contraste de cor verde-vermelho (oito sujeitos do tipo protan e nove do tipo deutan) quando avaliada a visão de cores pelos mesmos testes supracitados. Todos os voluntários apresentaram acuidade visual normal ou corrigida para 20/20. Os voluntários não apresentavam histórico de doença neurológica, oftalmológica ou sist mica que comprometesse a fun o visual geral, excluindo as discromatopsias de alguns voluntários.

#### **3.2. TESTES PSICOFÍSICOS**

A capacidade de discrimina o de cores dos voluntários foi avaliada por testes de psicofísica visual. O fenótipo de visão de cores dos voluntários foi determinado com base nos resultados obtidos nos testes psicofísicos.

##### **3.2.1 Teste das placas pseudoisocrom ticos de Ishihara**

O teste de placas pseudoisocrom ticas de Ishihara foi realizado usando o livro "*Ishihara's Tests for Colour Deficiency*", edi o de 38 placas (Ishihara, 1997). O teste consistiu na apresenta o de uma série de figuras pseudoisocrom ticas. Foram apresentadas as primeiras 25 figuras. A figura de número 1 foi introdutória e teve o

objetivo de avaliar se o sujeito compreendeu a tarefa. Todos os sujeitos, tricromatas ou não, devem conseguir identificar o alvo desta figura. As figuras de número 2 a 9 foram as de transformação, nas quais os sujeitos tricromatas normais e os dicromatópicos identificam alvos com números diferentes. As figuras de número 10 a 17 foram as de desaparecimento, nas quais os tricromatas normais identificam o número do alvo e os indivíduos com deficiência da visão de cores não identificam o alvo. As figuras de número 18 a 21 foram as de dígito escondido, nas quais os sujeitos tricromatas normais não identificam o alvo e os voluntários com deficiência da visão de cores identificam o número que compõe o alvo. As figuras de número 22 a 25 foram as classificatórias, nas quais os sujeitos com deficiência da visão de cores protan e deutan identificam diferentes números no alvo. O tricromata normal deve identificar ambos os números identificados pelos sujeitos com deficiência da visão de cores do tipo protan e deutan. Os voluntários que apresentaram abaixo de 8 erros foram considerados tricromatas normais. Os voluntários que apresentaram 8 ou mais erros foram considerados com deficiência da visão de cores verde-vermelho e o tipo de deficiência foi indicado pelo resultado da leitura das figuras de número 22 a 25.

Todos os voluntários foram posicionados a 75 cm de distância das imagens e instruídos a olhar para elas por 3 s. Após esse tempo, os voluntários respondiam se haviam visto algum número e quando sim, eles deveriam dizer qual número tinham visto. Os resultados dos testes foram registrados em fichas padronizadas, nas quais eram comparados com o resultado esperado para sujeitos sem alterações na visão de cores. Todos os sujeitos testados sabiam reconhecer números.

### **3.2.2. *Cambridge Colour Test***

Esse teste foi utilizado para avaliação da visão de cores através da estimativa de elipses de discriminação de cores dos voluntários. O estímulo do teste foi gerado pelo sistema ViSaGe (*Cambridge Research System, CRS, Reino Unido*) e apresentado em um monitor CRT com resolução espacial de 1600 x 1200 *pixels* e taxa de atualização de 125 Hz. O estímulo consistiu de um mosaico com configuração pseudoisocromática com ruído espacial de tamanho e luminância. O ruído de luminância do mosaico apresentou 6 níveis de luminância igualmente espaçados entre os valores mínimo ( $8 \text{ cd/m}^2$ ) e máximo ( $18 \text{ cd/m}^2$ ). O estímulo apresentava um alvo em forma de C, o qual era formado pelo agrupamento perceptual de círculos com cromaticidade diferente daquela do fundo do estímulo. Foram utilizados oito diferentes vetores de cromaticidade para gerar o alvo do estímulo. Cada estímulo foi apresentado durante 3 s.

Os voluntários foram posicionados a 3,25 m de distância do monitor e foram instruídos a indicar a orientação da abertura do alvo (para cima, para baixo, para direita e para esquerda) utilizando um controle remoto com quatro botões (controle CB6, VSG, Reino Unido). Um procedimento em escada foi responsável pela estimativa do limiar de discriminação de cores em cada eixo cromático testado. A cada resposta certa havia a diminuição do tamanho do vetor entre as cromaticidades do alvo e do fundo, enquanto a cada resposta errada havia um aumento do vetor entre as cromaticidades do alvo e do fundo. Um modelo de elipse foi aplicado aos dados de limiares de discriminação e a área e o ângulo de rotação da elipse foram usados para caracterizar os sujeitos testados como tricromatas normais, dicromatópicos do tipo deutan e discromatópicos do tipo protan.

### **3.2.3. Teste de anomaloscopia espectral**

O teste de anomaloscopia espectral é considerado o padrão ouro para avaliação da capacidade de discriminação de cores. Durante o teste, um campo circular bipartido foi mostrado. Na parte superior do campo foi apresentada uma mistura dos comprimentos de onda de 666 nm (verde) e 549 nm (vermelho). O resultado desta mistura foi uma cor na faixa do amarelo que simula a percepção do comprimento de onda de 589 nm. A parte inferior do campo apresentou um comprimento de onda de 589 nm. Os voluntários foram instruídos a igualar perceptualmente as cores nas duas partes do campo por meio da variação da intensidade da luz no hemicampo inferior.

### 3.3. POTENCIAL PROVOCADO VISUAL PSEUDO-ALEATÓRIO

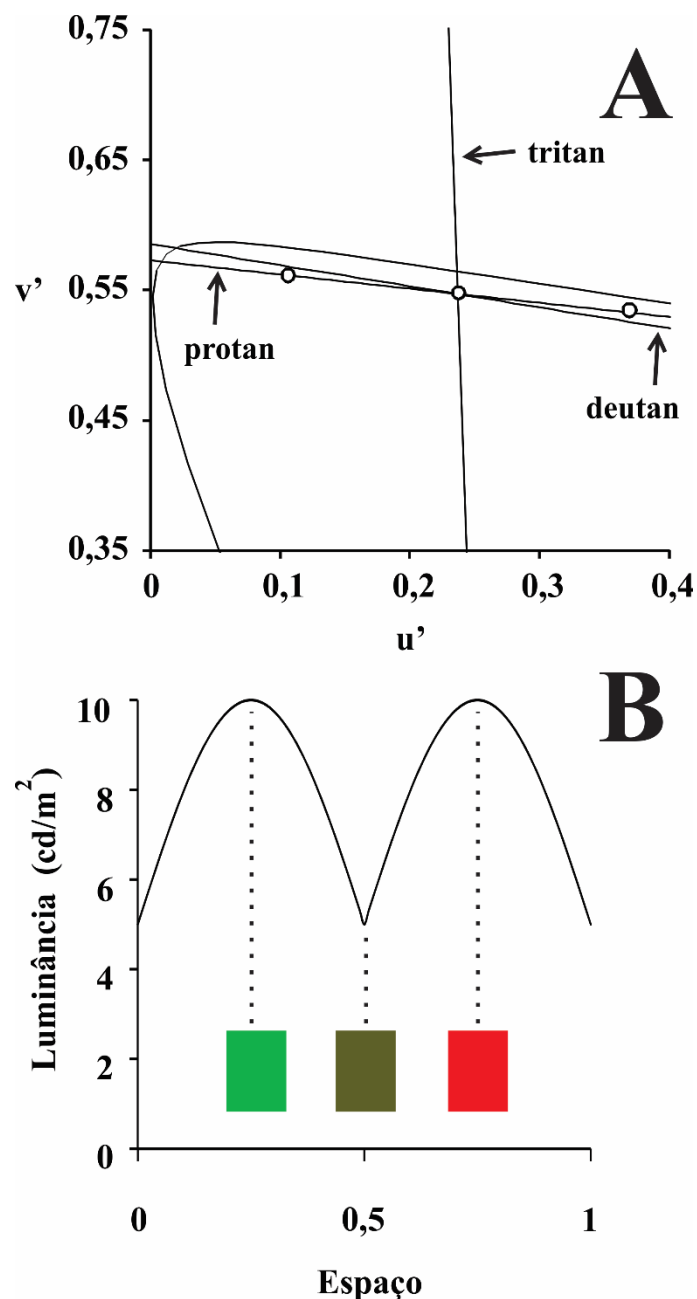
#### 3.3.1 Estimulação

O estímulo foi gerado pelo sistema Veris Science 6.10 (*Electro Diagnostic Imaging*, EDI, Redwood City, Califórnia, Estados Unidos da América) e apresentado em um monitor CRT com taxa de atualização de 75 Hz e resolução espacial de 1600 x 1200 pixels (*FlexScan T662*, Eizo, Ishikawa, Japão). Redes senoidais horizontais com 8° de ângulo visual e frequência espacial de 2 cpg foram utilizadas para gerar respostas corticais. Estas redes apresentavam contraste de luminância (estímulo de luminância) ou contraste simultâneo de ciclos de contraste cromático e de luminância (estímulo composto).

A luminância média do estímulo acromático foi constante e igual a 10 cd/m<sup>2</sup> e sua cromaticidade média também foi mantida constante (espaço de cor CIE1976:  $u' = 0,276$ ,  $v' = 0,545$ ). O estímulo composto apresentou contraste cromático verde (espaço de cor CIE1976:  $u' = 0,12$ ,  $v' = 0,564$ ) e vermelho (espaço de cor CIE1976:  $u' = 0,432$ ,  $v' = 0,527$ ). O perfil de luminância das cores verde e vermelha obedeceu a soma de duas funções senoidais com retificação de meia onda e diferença de fase espacial de

180°. O pico de luminância da função senoidal foi de 10 cd/m<sup>2</sup> e a luminância mínima foi de 5 cd/m<sup>2</sup>. As cores utilizadas nesse estímulo estavam localizadas próximas aos eixos de confusão deutan e protan (Figura 2). A luminância de 5 cd/m<sup>2</sup> corresponde àquela das faixas com cromaticidade próxima ao amarelo utilizado nos estímulos acromáticos.

A variação temporal dos estímulos foi modulada por uma sequência binária (sequência-m) composta por  $2^{14}-1$  elementos. Dois modos de apresentação foram utilizados: apresentação *onset* e reversa. Sendo assim, quatro estímulos distintos foram apresentados aos voluntários, o padrão reverso acromático e padrão reverso composto e o padrão *onset* acromático e padrão *onset* composto. Para o padrão reverso, o período base da sequência-m foi de 13,3 ms (1 quadro de apresentação, do inglês *frame*) e cada estado da sequência-m mostrava a rede senoidal com diferença de fase espacial de 180°. Para o padrão *onset*, o período base da sequência-m foi de 26,6 ms (2 quadros de apresentação). Um dos estados da sequência-m mostrou a rede senoidal por 13,3 ms e substituída por um campo homogêneo em luminância e cromaticidade por mais 13,3 ms, totalizando os 26,6 ms do período base. O outro estado da sequência-m mostrou um campo homogêneo em luminância e cromaticidade durante os 26,6 ms do período base.



**Figura 2. Modulação da estimulação composta.** Para a estimulação composta foram utilizadas duas cores definidas no Diagrama da CIE 1976: vermelho ( $u' = 0.432$ ,  $v' = 0.527$ ) e verde ( $u' = 0.12$ ,  $v' = 0.564$ ) (A). Para atingir meio ciclo de estimulação, a luminância variava de  $5\text{cd}/\text{m}^2$  até  $10\text{cd}/\text{m}^2$  e de volta de acordo com uma função seno ao mesmo tempo que a cromaticidade variava de vermelho ou verde até um amarelo intermediário (B).

### 3.3.2. Registro eletrofisiológico

O registro bioelétrico foi realizado através de um canal de eletrodos posicionados segundo as normas da *International Society of Clinical Electrophysiology of Vision* (ISCEV) (Odom et al., 2009). O eletrodo ativo deve ser posicionado em Oz, o eletrodo de referência em Fz e o eletrodo terra em Fpz. O registro foi amplificado 50000 vezes e digitalizado em 1200 Hz. O sistema Veris Science foi utilizado para extração do *kernel* de primeira ordem (K1) e do primeiro *slice* e segundo *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.1 e K2.2, respectivamente). As formas de onda dos diferentes *kernels* foram filtradas posteriormente entre 0,1 e 50 Hz.

### 3.3.3. Análise dos dados

#### a) Estimativa da magnitude das respostas

Para comparação da magnitude das respostas de tricromatas normais e discromatópicos calculou-se a integral das amplitudes dos componentes dos registros no intervalo entre 70 e 130 ms em todas as condições de estimulação. O cálculo da integral foi realizado por uma rotina criada no programa MATLAB (*Mathworks*, Natick, Massachusetts, EUA) usando a função *trapz*( ).

#### b) Avaliação da similaridade entre as formas de onda do VECP

A similaridade entre duas formas de onda do VECP gerado por estímulos compostos foi avaliada usando uma correlação cruzada normalizada. A rotina de análise foi desenvolvida em linguagem MATLAB e a correlação cruzada foi realizada usando a função *xcorr*( ).

Os valores de correlação variaram de 0 até 1, correspondendo à mínima ou máxima correlação possível, respectivamente. Também foram analisados os valores



de *lag* (intervalo) da correlação, cujos menores valores representaram maior similaridade entre as formas de onda.

- c) Variação da amplitude do VECP em função do tempo de interação das respostas

Para avaliar a variação da amplitude do VECP gerado por padrão reverso em função do tempo de interação entre as respostas foi calculada a amplitude RMS em uma janela temporal de 50 a 200 ms e correlacionada com intervalo de interação de respostas referentes ao *slice* do *kernel* de segunda ordem avaliado.

A mesma análise descrita acima foi aplicada a duas janelas temporais do registro, 50 a 125 ms e 125 a 200 ms, correspondentes aos componentes iniciais e tardios do VECP gerado por padrão reverso.

Em ambos os casos, os dados de amplitude do VECP em função do tempo de interação do referente *slice* do *kernel* de segunda ordem foram ajustados a funções lineares. Desta função serão extraídos o coeficiente angular e o valor do tempo no qual a amplitude do VECP atingiria o valor da amplitude média do ruído. A amplitude média do ruído foi estimada como a amplitude RMS no intervalo entre 300 ms e 500 ms.

- d) Análise estatística

O teste de *Kruskal-Wallis* e o teste post-hoc de *Dunn* ( $\alpha = 0,05$ ), quando necessário, foram aplicados para a comparação entre as diferentes condições de experimentais de registro.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO MODO DE APRESENTAÇÃO SOBRE POTENCIAL CORTICAL PROVOCADO VISUAL PSEUDO-ALEATÓRIO**

#### **4.1.1. Tricromatas normais**

A forma de onda do VECP variou de acordo com o tipo de contraste apresentado, com o modo de apresentação do estímulo e entre os *slices* e *kernels* analisados. A Figura 3 mostra a média dos registros de 11 voluntários tricromatas para as diferentes formas de estimulação utilizadas. Não houve resposta à estimulação reversa acromática em K1. Em K2.1, a resposta acromática reversa apresentou um componente negativo em 85 ms, seguido por dois picos positivos entre 100 e 120 ms. Em K2.2, observou-se que a resposta acromática reversa apresentou um primeiro componente negativo em 100 ms que foi seguido por um componente positivo em 130 ms. Não houve resposta mensurável para estimulação composta apresentada no padrão reverso para K1. Em K2.1 e K2.2, as respostas para o estímulo composto apresentaram um componente negativo em 100 ms. As respostas para os estímulos com padrão reverso composto e de luminância mostraram polaridades opostas em 100 ms somente em K2.1.

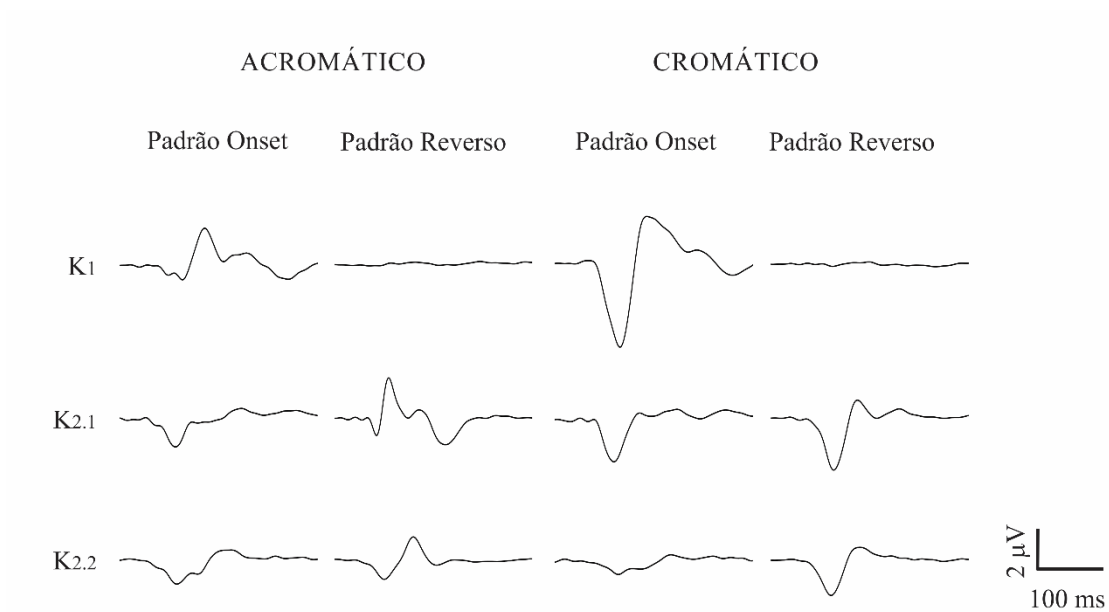
Os estímulos compostos e de luminância apresentados no padrão *onset* geraram respostas semelhantes, um componente negativo em 100 ms em K1, K2.1 e K2.2. Somente K1 apresentou um pico positivo em 150 ms em resposta aos dois tipos de contraste utilizados.

#### **4.1.2. Voluntários discromatópicos**

As Figuras 4 e 5 mostram a média dos registros de oito voluntários protanopes e nove voluntários deuteranopes, respectivamente. A forma de onda das

respostas corticais aos estímulos de luminância dos voluntários discromatópicos foi semelhante às daquelas dos voluntários tricromatas normais para ambos os modos de apresentação. Em resposta ao modo de apresentação *onset*, observou-se em K1, K2.1 e K2.2 um componente negativo em 100 ms. O padrão reverso não gerou respostas mensuráveis em K1. K2.2 apresentou um pico negativo em 85 ms seguido por dois picos positivos entre 100 e 120 ms e K2.2 apresentou um pico negativo em 100 ms seguido por um pico positivo em 130 ms.

A estimulação composta apresentada no padrão *onset* gerou respostas menores nos voluntários protanopes do que nos tricromatas normais em K1, essa resposta foi marcada por um componente negativo em 100 ms. Não houve resposta mensurável nas mesmas condições de estimulação para a os voluntários deuteranopes. K2.1 e K2.2 apresentaram um componente negativo em 100 ms, sendo que em K2.1 tal componente foi menor para voluntários discromatópicos do que para os tricromatas.

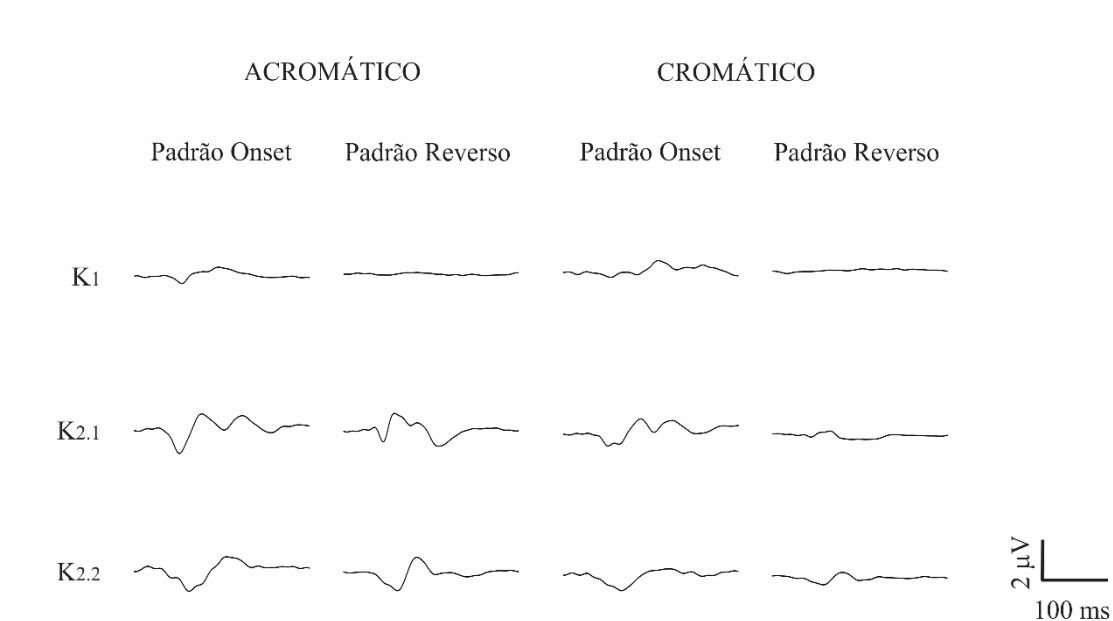


**Figura 3. Forma de onda média do VECP de indivíduos tricromatas normais para estímulos acromáticos e compostos apresentados nos padrões *onset* e *reverso*. As médias foram obtidas dos registros de 11 indivíduos. De cima para baixo estão os registros do *kernel* de primeira ordem (K1), do primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.1) e do segundo *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.2).**

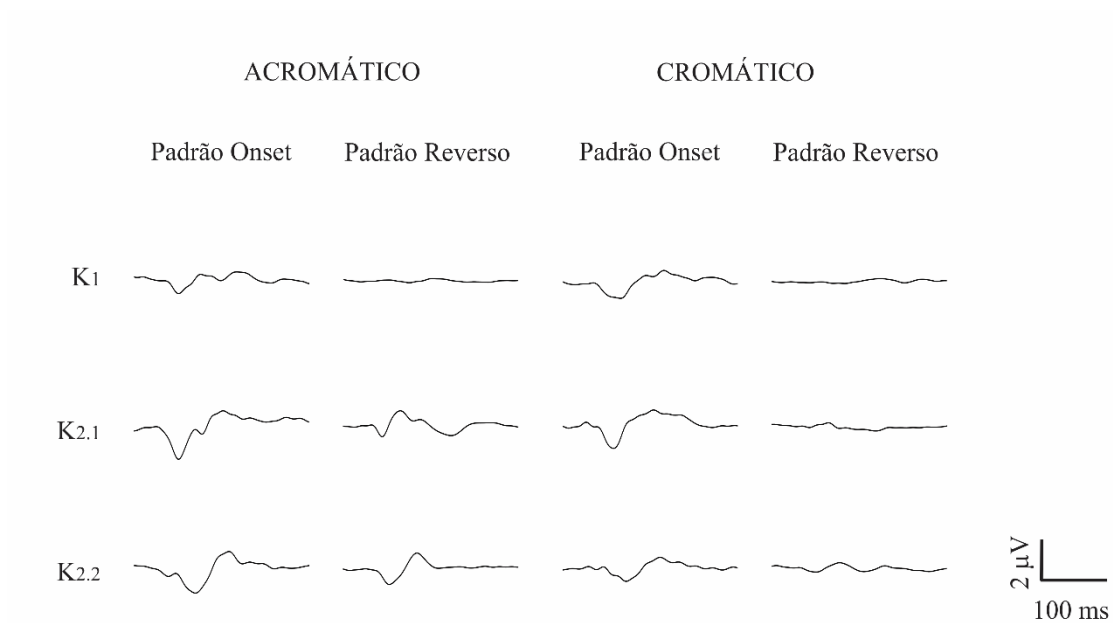
O estímulo composto apresentado no padrão reverso não gerou resposta em K1. K2.1 e K2.2 apresentaram respostas pequenas e com polaridade positiva em 100 ms, essas respostas diferiram daquelas encontradas para os tricromatas.

### **3.1.3. Comparação da magnitude da resposta entre tricromatas normais e discromatópicos**

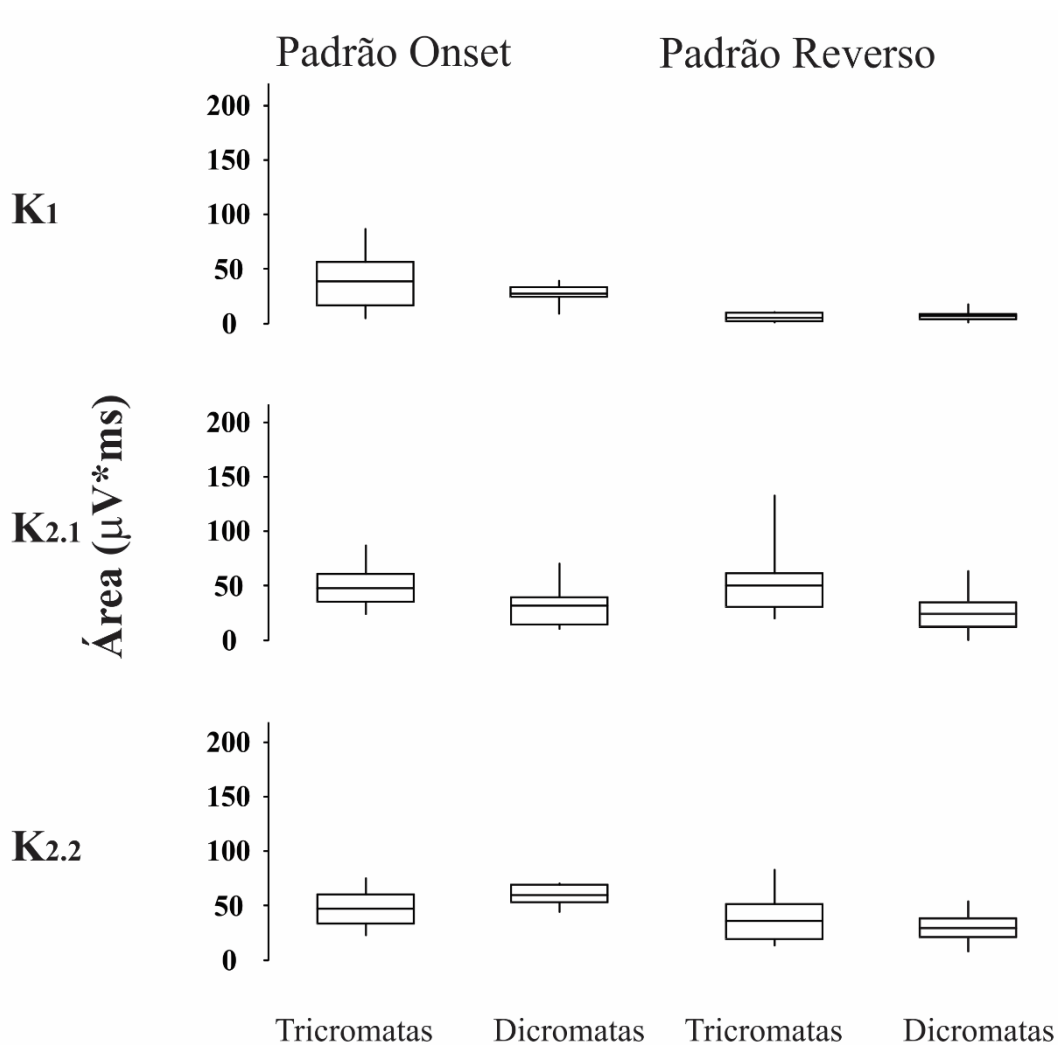
Os valores numéricos da integral da amplitude dos componentes do VECP localizados no intervalo de 70 e 130 ms do registro, tanto dos voluntários discromatópicos quanto tricromatas foram analisados para os contrastes de luminância e composto. A resposta ao estímulo de luminância não apresentou diferença estatística entre os grupos (Figura5). Para a estimulação composta, os tricromatas apresentaram respostas significativamente maiores para o padrão *onset* K2.1 ( $P=0,02$ ), padrão reverso K2.1 ( $0,002$ ) e K2.2 ( $0,0001$ ) (Figura 7).



**Figura 4. Forma de onda média do VECP de indivíduos com fenótipo deutan para estímulos acromáticos e compostos apresentados nos padrões *onset* e *reverso*. As médias foram obtidas dos registros de nove indivíduos. De cima para baixo estão os registros do *kernel* de primeira ordem (K1), do primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.1) e do segundo *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.2).**

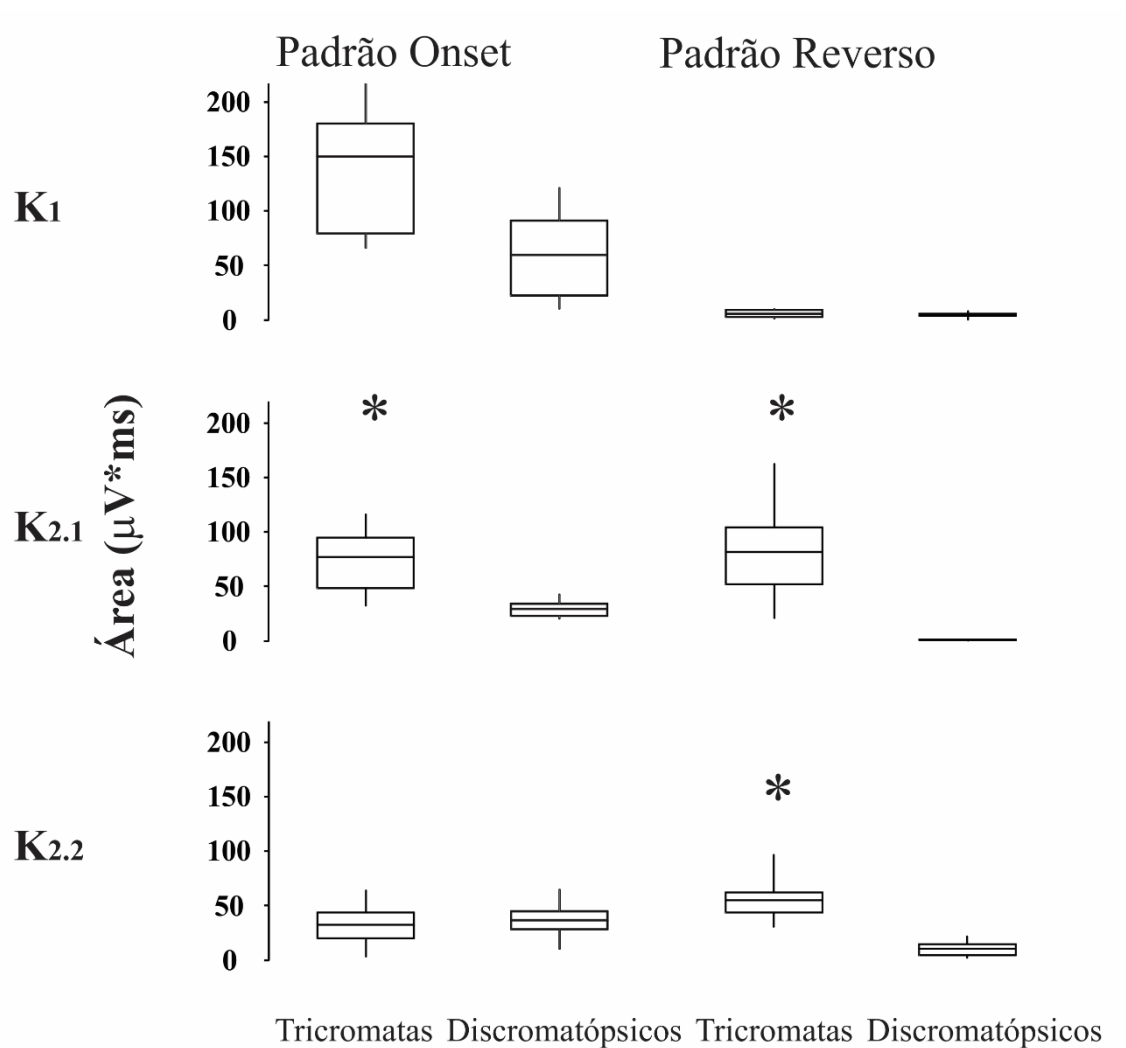


**Figura 5. Forma de onda média do VECP de indivíduos com fenótipo protan para estímulos acromáticos e compostos apresentados nos padrões *onset* e *reverso*. As médias foram obtidas dos registros de oito indivíduos. De cima para baixo estão os registros do *kernel* de primeira ordem (K1), do primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.1) e do segundo *slice* do *kernel* de segunda ordem (K2.2).**



**Figura 6. Magnitude das respostas corticais geradas por estímulos de luminância em indivíduos tricromatas normais e discromatopsicos.** Não houve diferença entre as magnitudes das respostas geradas em tricromatas normais e discromatopsicos por estímulos luminância em nenhum dos modos de apresentação. Os gráficos mostram valores de mediana (linha horizontal média), primeiro quartil (linha horizontal inferior), terceiro quartil (linha horizontal superior), máximo (linha vertical superior) e mínimo (linha vertical inferior).





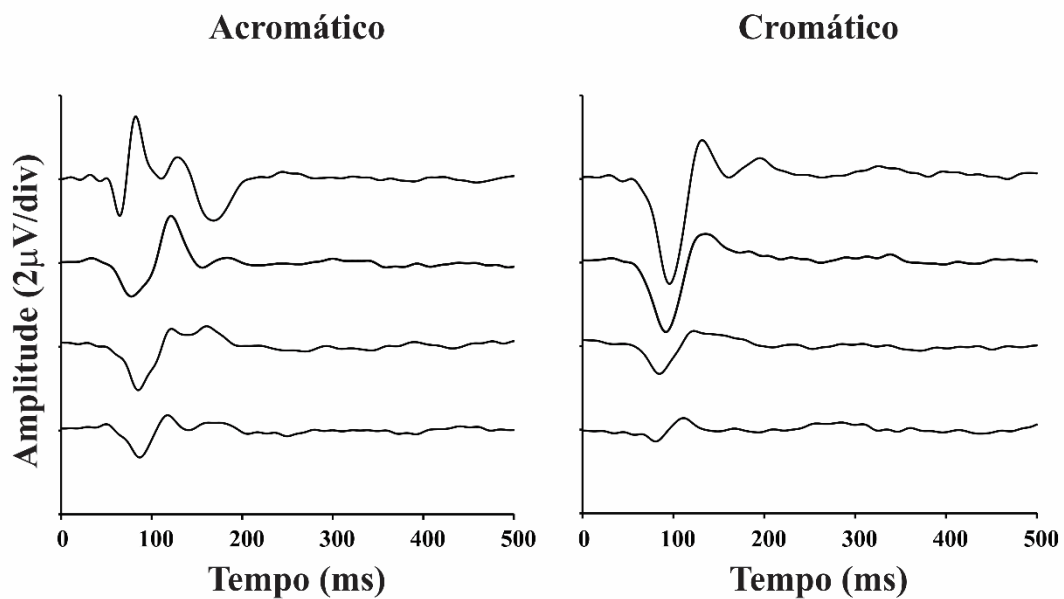
**Figura 7. Magnitude das respostas corticais geradas por estímulos compostos em indivíduos tricromatas normais e discromatópicos.** O padrão *onset* em K2.1, o padrão reverso em K2.1 e K2.2 apresentaram respostas maiores nos tricromatas do que nos indivíduos discromatópicos. O \* indica significância estatística ( $P < 0,05$ ).

### 3.1.4. Correlação cruzada entre as formas de onda do VECP de voluntários tricromatas normais

O valor máximo de correlação-cruzada entre a resposta ao padrão *onset* K1 e K2.1 foi  $0,37 \pm 0,24 \mu V^2$  e o *lag* da correlação-cruzada máxima para essas condições foi  $8,3 \pm 1,8$  ms. A análise executada entre o padrão reverso K2.1 e K2.2 obteve valores máximos de correlação e valores de *lag* da máxima correlação iguais a  $0,73 \pm 0,13 \mu V^2$  e  $4,9 \pm 6,1$  ms, respectivamente. Para a correlação entre a resposta ao padrão *onset* K2.1 e ao padrão reverso K2.2 os valores correspondentes aos mesmos parâmetros foram de  $0,71 \pm 0,19 \mu V^2$  e  $0,7 \pm 4,2$  ms.

### 3.2. AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DA AMPLITUDE DO VECP GERADO POR PADRÃO REVERSO EM FUNÇÃO DO TEMPO ENTRE AS DUAS RESPOSTAS GERADORAS DE UM DETERMINADO *SLICE* DO *KERNEL* DE SEGUNDA ORDEM

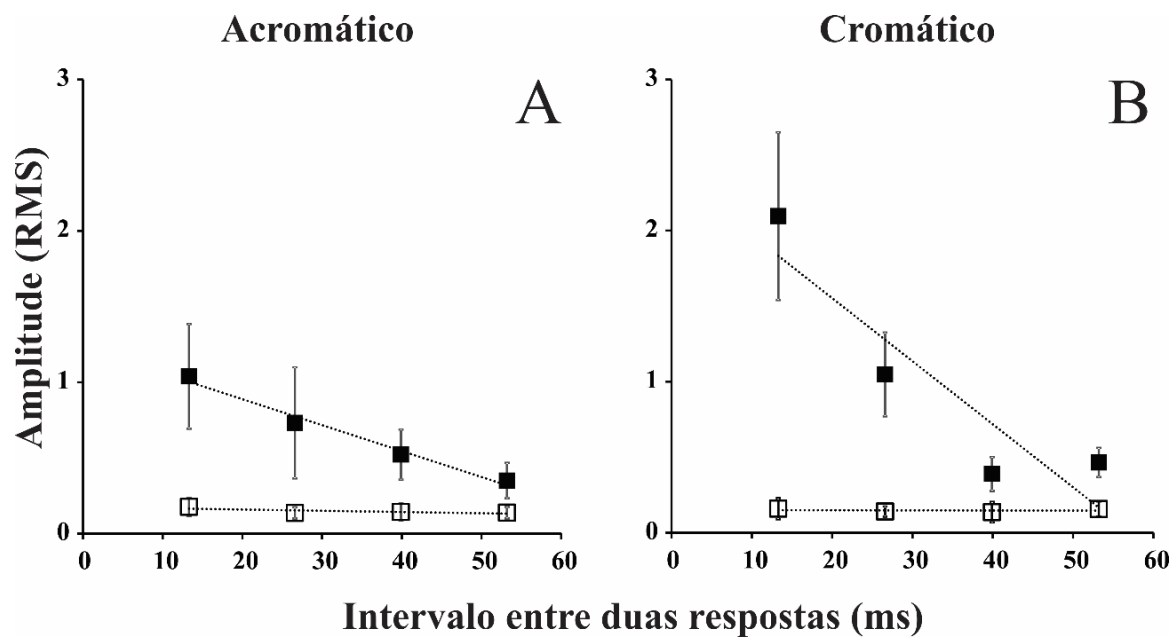
A Figura 8 mostra a média dos registros de 11 voluntários para a estimulação reversa para ambos os tipos de contraste utilizados nos quatro primeiros *slices* do *kernel* de segunda ordem. A descrição das formas de onda de K2.1 e K2.2 já foi feita na seção 3.2.3. A estimulação acromática gerou respostas com polaridade negativa em 100 ms para K2.3 e K2.4. A estimulação composta gerou respostas com polaridade negativa em torno de 100 ms em K2.3 e respostas pequenas com polaridade positiva em 100 ms em K2.4. Tanto para a estimulação acromática quanto para a estimulação composta, observou-se que houve diminuição da magnitude da resposta em função do *slice* do *kernel* de segunda ordem analisado.



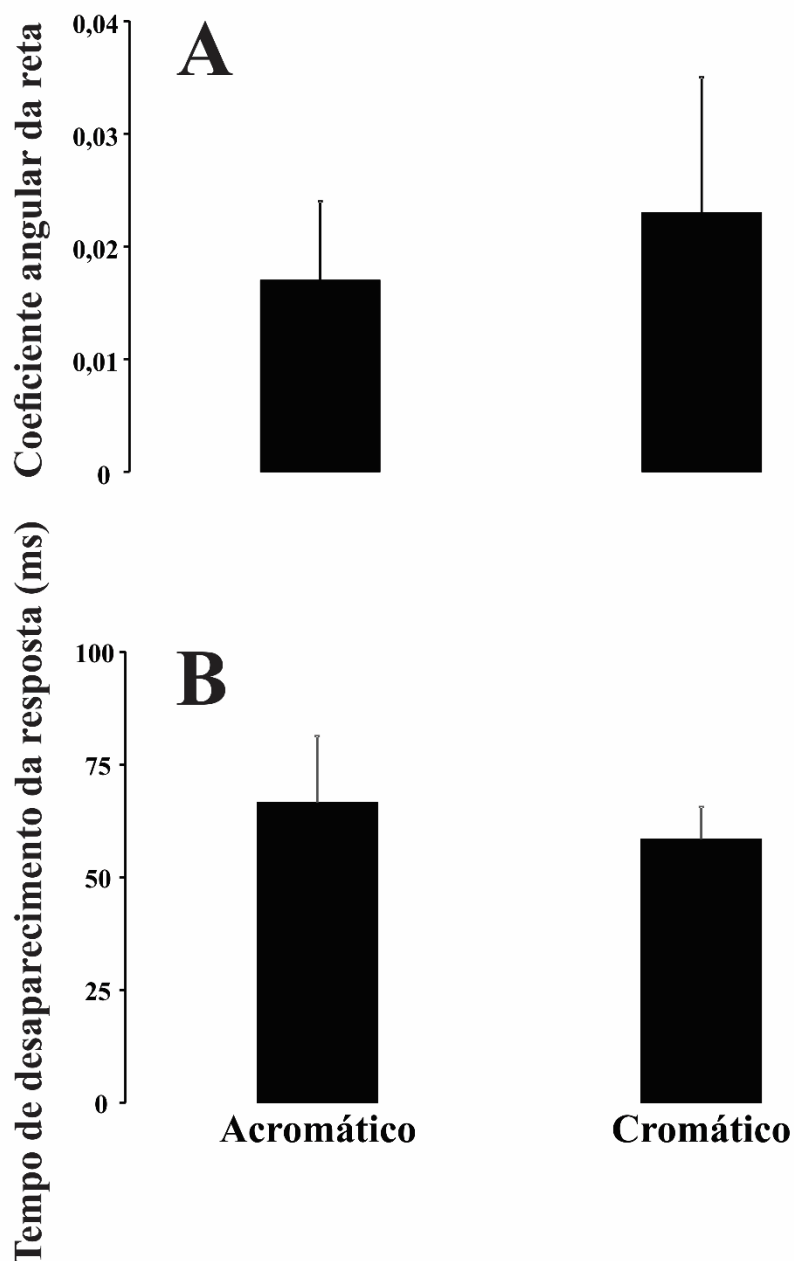
**Figura 8. Forma de onda média do VECP de indivíduos tricromatas para estímulos acromáticos e compostos apresentados no padrão reverso.** Média das respostas corticais de 11 voluntários aos estímulos acromático (esquerda) e cromático (direita). De cima para baixo encontram-se os slices de um a quatro do kernel de segunda ordem (K 2.1, K 2.2, K 2.3 e K2.4, respectivamente).

Quando se considerou a magnitude de uma janela temporal que compreendia toda a resposta eletrofisiológica, a amplitude RMS das respostas cromática e acromática decaiu linearmente a cada slice (Figura 9). Para a análise realizada com a janela temporal de 50 a 200 ms não houve diferença entre os coeficientes angulares das funções que descreveram o decaimento da amplitude do VECP de luminância e cromático (acromático:  $-0,017 \pm 0,007 \mu\text{V}/\text{ms}$ ; cromático:  $-0,023 \pm 0,012 \mu\text{V}/\text{ms}$ ). Também não houve diferença entre os valores estimados de tempo até o decaimento da amplitude ao nível do ruído para as estimulações acromática ( $66,6 \pm 14,7 \text{ ms}$ ) e composta ( $58,51 \pm 7,09 \text{ ms}$ ) (Figura 10).

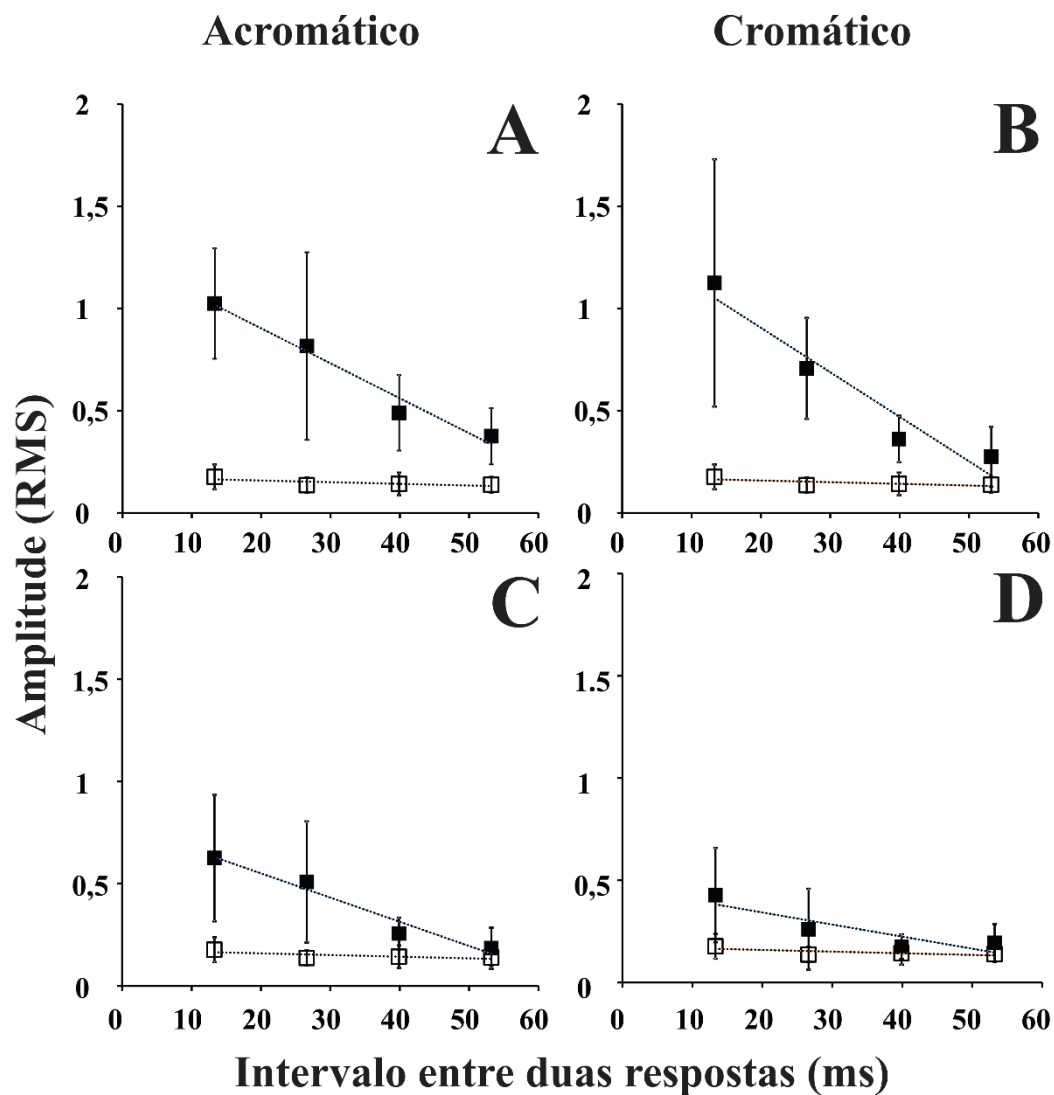
Quando foram analisadas duas janelas temporais, de 50-125 ms (janela primária) e de 125-200 ms (janela secundária), observou-se decaimento da amplitude da resposta a cada slice (Figura 11). Observou-se também que não houve diferença estatística entre os valores médios do coeficiente angular da resposta acromática para as janelas primária ( $-0,017 \pm 0,006 \mu\text{V}/\text{ms}$ ) e secundária ( $-0,0118 \pm 0,008 \mu\text{V}/\text{ms}$ ), entretanto, o tempo médio para que a amplitude do sinal fosse reduzida à amplitude do ruído foi maior na janela primária,  $70,43 \pm 18,6 \text{ ms}$ , do que na janela secundária,  $57,62 \pm 7,9 \text{ ms}$ . Para as respostas ao estímulo composto os valores médios do coeficiente angular para a janela primária ( $-0,0218 \pm 0,013 \mu\text{V}/\text{ms}$ ) foi maior do que para a janela secundária ( $-0,0059 \pm 0,005 \mu\text{V}/\text{ms}$ ). Não houve diferença estatística entre os intervalos de tempo estimado para a redução do sinal entre a primeira ( $61,4 \pm 13,8 \text{ ms}$ ) e a segunda ( $58,5 \pm 9,7 \text{ ms}$ ) janela para a resposta ao estímulo composto (Figura 12).



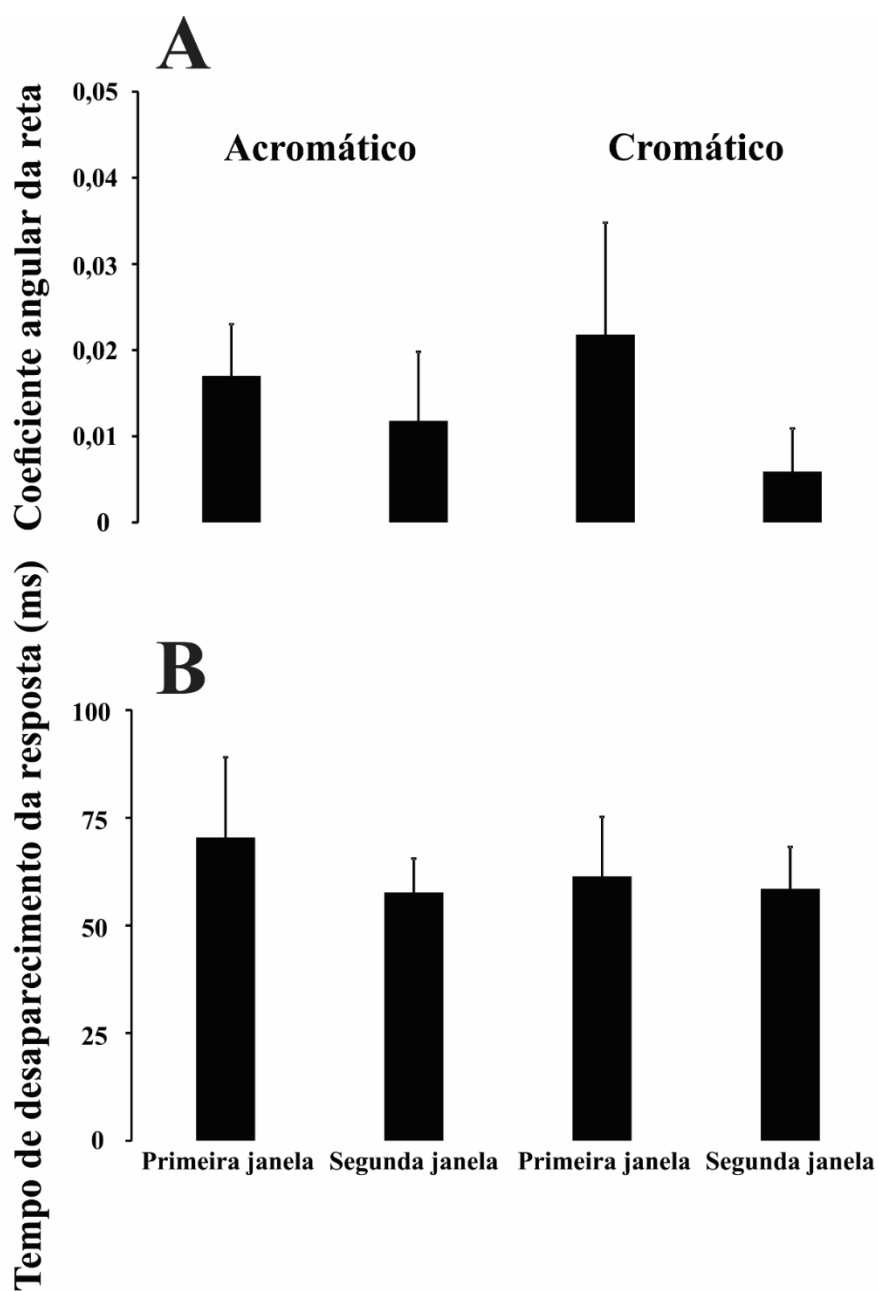
**Figura 9. Decaimento do sinal de uma única janela temporal em função do intervalo entre duas respostas.** A amplitude da resposta diminuiu em função do tempo entre os intervalos de comparação do sinal. Não houve diferença entre o tempo estimado para que a amplitude da resposta (quadrados preenchidos) decaísse até o nível do ruído (quadrados vazados) para o estímulo acromático (A) e o estímulo cromático (B).



**Figura 10. Coeficiente angular da reta e tempo de desaparecimento da resposta para uma única janela temporal.** Os valores médios dos coeficientes lineares das retas que descrevem o comportamento da amplitude em função do tempo de interação não apresentaram diferenças entre as respostas ao estímulo composto e de luminância (A). O tempo de interação entre as respostas suscitadas por diferentes frames não diferiu entre as respostas ao estímulo de luminância e composto (B).



**Figura 11. Decaimento do sinal em duas janelas temporais em função do intervalo entre respostas.** A amplitude da resposta diminuiu linearmente em função do tempo entre os intervalos de comparação do sinal. Primeira e segunda janela temporal da resposta acromática (A e C, respectivamente). Primeira e segunda janela temporal da resposta cromática (B e D, respectivamente)



**Figura 12. Coeficiente angular da reta e tempo de desaparecimento em duas janelas temporais.** Os valores médios dos coeficientes lineares das retas que descrevem o comportamento da amplitude em função do tempo de interação apresentaram diferenças entre as respostas iniciais e tardias geradas pelo estímulo cromático. O tempo de interação entre as respostas suscitadas por diferentes frame diferiu entre as respostas primárias e tardias para o estímulo acromático.



## 5. DISCUSSÃO

Foram utilizadas sequências pseudo-aleatórias para modular temporalmente as grades senoidais acromáticas e compostas apresentadas nos padrões *onset* e reverso. O presente estudo introduziu o uso de grades compostas para estudar os mecanismos do VECP. Previamente, estímulos similares foram utilizados em estudos psicofísicos, eletrofisiológicos e de registro unitário (Lee et al., 2011; Parry et al, 2012; Li et al., 2014). Os *kernels* do VECP gerados por padrão *onset* e reverso com grades compostas foi dominado por componentes negativos em torno de 100 ms. Esse tipo de estímulo composto foi previamente utilizado para gerar simultaneamente respostas visuais para contrastes cromáticos e de luminância (Lee et al., 2011). No presente estudo nós sugerimos que as respostas para os estímulos compostos foram dominadas por informação cromática, especialmente para estímulos apresentados no padrão reverso. Dois resultados suportam essa hipótese: 1) a resposta ao padrão reverso acromático foi dominada por um componente positivo, enquanto a resposta ao padrão reverso composto foi dominada por um componente negativo na mesma latência e 2) o estímulo composto gerou uma resposta pequena ou ausente nos voluntários discromatópsicos indicando que as respostas para o estímulo composto foram dominadas por contribuições cromáticas nesse estudo.

Carden et al. (1985), usando VECP tradicional, descreveram respostas ao VECP reverso cromático e acromático dominadas por um componente positivo em 100 ms e o padrão *onset* na mesma latência dominado por um componente negativo para estimulação cromática e positivo para estimulação acromática. No presente estudo observou-se que apenas estimulação reversa gerou K2.1 com polaridade oposta em 100 ms entre os contrastes de luminância e composto. Nenhuma diferença foi percebida para

entre as respostas geradas pelo estímulo *onset* no mesmo *kernel* e na mesma latência para os dois tipos de contraste utilizados.

Dois outros estudos prévios isolaram respostas cromáticas geradas por estimulação pseudo-aleatória (Baseler e Sutter, 1997; Gerth et al., 2003). Baseler e Sutter (1997) observaram respostas predominantemente positivas para K2.1 quando utilizaram dartboard com padrão reverso cromático isoluminante, enquanto Gerth et al. (2003) descreveram K1 predominantemente negativo para o padrão *onset* e K2.1 dominado por componente negativo para o padrão reverso cromático isoluminante com padrão de triângulos.

A polaridade o VECP acromático pseudo-aleatório depende da configuração do estímulo. K2.1 com polaridade positiva em 100 ms foi observado em estímulos com hexágono central único com alto contraste de luminância (Klistorner et al., 1997) bem como com grades senoidais com alto contraste de luminância apresentadas no padrão reverso (Araújo et al., 2013). Entretanto, quando o padrão de triângulos foi utilizado, K1 com padrão *onset* acromático teve polaridade negativa, similar ao padrão *onset* cromático em K1 (Gerth et al., 2003). No presente trabalho não foi encontrada diferença entre as respostas dos voluntários tricromatas e dos discromatópicos em relação à amplitude das respostas acromáticos entre os kernels do padrão *onset* e reverso.

O VECP convencional cromático registrado dos voluntários com deficiência na visão de verde e vermelho foi utilizado para avaliar se a resposta seria dependente de mecanismos de oposição de cor (Kinney & McKay, 1974; Regan e Spekreijse, 1974; Crognale et al., 1993; Suttle e Harding, 1999; Gomes et al., 2006, 2008). Todos esses estudos encontraram que o VECP tem amplitudes menores ou é completamente ausente para contraste de cor modulado ao longo dos eixos de confusão. No presente estudo foi encontrado que a amplitude dos kernels em 100 ms obtidos dos

voluntários com perda de visão de cor foi menor do que a dos tricromatas normais. Alguns voluntários discromatópsicos apresentaram pequena positividade em 100 ms em resposta à estimulação reversa composta, provavelmente refletindo a ativação de mecanismos acromáticos.

Os *kernels* do VECP gerados por estimulação reversa e *onset* podem não representar o mesmo estado de adaptação do sistema visual (Sutter, 2000). Nesse trabalho foram utilizados períodos base de 13,3 ms e 26,6 ms para o padrão reverso e *onset*, respectivamente. O padrão reverso K2.2 é equivalente ao padrão *onset* K2.1, uma vez que ambos representam a interação entre dois impulsos separados por 26,6 ms. As diferenças estatísticas na amplitude do VECP entre tricromatas e discromatópsicos para o padrão reverso K2.1 e K2.2 dão suporte para a sugestão de que esses *kernels* são gerados por mecanismo cromáticos similares.

Em conclusão, os dados coletados nesse trabalho indicam que o padrão reverso K2.1 composto é a melhor configuração de estímulo para diferenciar entre mecanismos cromáticos e acromáticos em estudos de VECP.

## 6. CONCLUSÃO

O VECP gerado por estimulação pseudo-aleatória é sensível ao modo de apresentação e à presença de contraste cromático na estimulação. O primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem obtido com estimulação cromática apresentada no modo reverso apresentou maior sensibilidade ao estímulo composto, sendo, portanto, a melhor condição para diferenciar mecanismos cromáticos e acromáticos de resposta observada nesse trabalho.

A intensidade da resposta aos estímulos cromáticos e acromáticos é menor quanto maior é o tempo de interação entre as respostas e não houve nenhum componente do VECP que apresentasse resposta mais duradoura nas janelas temporais observadas.

## **7. APOIO FINANCEIRO**

Este trabalho contou com os seguintes subsídios: CNPq-PRONEX/FAPESPA #316799/2009; CNPq #486545/2012-1; e FINEP IBN Net #1723.

## 8. PRODUÇÃO CIENTÍFICA ORIUNDA DESTA DISSERTAÇÃO

- RISUENHO, B. B. O. ; MIQUILINI, L. ; LACERDA, E. M. C. B. ; SILVEIRA, L. C. L. ; SOUZA, Givago da Silva . Cortical responses elicited by luminance and compound stimuli modulated by pseudo-random sequences: comparison between normal trichromats and congenital red-green color blinds. *Frontiers in Psychology*, v. 6, p. 1-1, 2015.

- RISUENHO, B. B. O. ; SILVEIRA, L. C. L. ; SOUZA, Givago da Silva . Dinâmica temporal das interações entre respostas corticais geradas por estímulos pseudoaleatórios acromáticos e cromáticos. In: XXIX Reunião anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, 2014, Caxambú. Caderno de resumos da XXIX Reunião anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental. Caxambú: FeSBE, 2014.

- SOUZA, Givago da Silva; DA SILVA, V. G. R. ; ARAÚJO, C. S. ; RISUENHO, B. B. O. ; GOMES, B. D. ; SILVEIRA, L. C. L. . Effects of the presentation mode and color contrast in visual evoked potential elicited by pseudo-random stimuli. In: ARVO 2012, 2012, Fort Lauderdale. Abstract book of ARVO 2012. Fort Lauderdale: ARVO, 2012.

- RISUENHO, B. B. O. ; SOUZA, Givago da Silva ; MIQUILINI, L. ; LACERDA, E. M. C. B. ; ARAÚJO, C. S. ; GOMES, B. D. ; SILVEIRA, L. C. L. . RESPOSTAS CORTICAIS SELETIVAS A MECANISMOS CROMÁTICOS E ACROMÁTICOS OBTIDAS POR ESTÍMULOS CONTROLADOS TEMPORALMENTE POR SEQUÊNCIAS BINÁRIAS PSEUDO-ALEATÓRIAS. In: XXVII Reunião Anual da FeSBE - FesBE 2012, 2012, Águas de Lindóia. Livro de Resumos da XXVII Reunião Anual da FeSBE - FesBE 2012. São Paulo: FeSBE, 2012.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Araújo CS, Souza GSS, Gomes BD, Silveira LCL (2013) Visual evoked cortical potential (VECP) elicited by sinusoidal gratings controlled by pseudo-random stimulation. *PLOS ONE*, 8(8), e70207, 1-11.
2. Baseler, H.A, & Sutter, EE (1997). M and P components of the VEP and their visual field distribution. *Vision Research*, 37,675-690.
3. Berninger, T. A., Arden, G. B., Hogg, C. R., & Frumkes, T. (1989). Colour vision defect diagnosed by evoked potentials. *Investigative Ophthalmology and Vision Science*, 30, 290-299.
4. Bobak P, Bodis-Wollner I, Harnois C, Thornton J (1984) VEPs in humans reveal high and low spatial contrast mechanisms. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 25, 980-983.
5. Carden D, Kulikowski JJ, Murray IJ, Parry NRP (1985) Human occipital potentials evoked by the onset of equiluminant chromatic gratings. *Journal of Physiology*, 369, 44.
6. Chatterjee S & Callaway EM (2003) Parallel colour-opponent pathways to primary visual cortex. *Nature*, 426, 668-671.
7. Cooper B, Sun H, Lee BB (2012) Psychophysical and physiological responses to gratings with luminance and chromatic components of different spatial frequencies. *Journal of the Optical Society of America A*, 29, A314-A323.
8. Crognale MA, Switkes E, Rabin J, Schneck ME, Haegerstrom-Portnoy G., Adams AJ (1993) Application of the spatiochromatic visual evoked potential to detection of congenital and acquired color-vision deficiencies. *Journal of the Optical Society of America*, A10, 1818–1825.

9. Dacey DM (1993). Morphology of a small-field bistratified ganglion cell type in the macaque and human retina. *Visual Neuroscience*, 10(6), 1081–1098.
10. Dacey DM, Lee BB (1994) The ‘blue-on’ opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. *Nature*, 367, 731-735.
11. Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, Yau KW, Gamlin PD (2005) Melanopsin expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, 433, 749-754.
12. Dacey DM, Packer OS (2003) Colour coding in the primate retina: diverse cell types and cone-specific circuitry. *Current Opinion in Neurobiology*, 13, 421-427.
13. Dacey DM, Peterson BB, Robinson FR, Gamlin PD (2003) Fireworks in the primate retina: in vitro photodynamics reveals diverse LGN-projecting ganglion cell types. *Neuron*, 37, 15-27.
14. de Monasterio FM, Gouras P (1975) Functional properties of ganglion cells of the rhesus monkey retina. *Journal of Physiology (London)*, 251, 167-195.
15. de Monasterio FM, Gouras P, Tolhurst DJ (1975a) Trichromatic colour opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. *Journal of Physiology (London)*, 251, 197-216.
16. de Monasterio FM, Gouras P, Tolhurst DJ (1975b) Concealed colour opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. *Journal of Physiology (London)*, 251, 217-229.
17. De Valois RL (1960) Color vision mechanisms in the monkey. *Journal of General Physiology*, 43, 115-128.
18. Derrington AM, Krauskopf J, Lennie P (1984) Chromatic mechanisms in lateral geniculate nucleus of macaque. *Journal of Physiology (London)*, 357, 241-265.



19. Derrington AM, Lennie P (1984) Spatial and temporal contrast sensitivities of neurons in lateral geniculate nucleus of macaque. *Journal of Physiology (London)*, 357, 219-240.
20. Dreher B, Fukada Y, Rodieck RW (1976) Identification, classification and anatomical segregation of cells with X-like and Y-like properties in the lateral geniculate nucleus of old-world primates. *Journal of Physiology*. 258:433–452.
21. Gerth C., Delahunt P. B., Crognale M. A., Werner J. S. (2003). Topography of the chromatic pattern-onset VEP. *Journal of Vision*, 3, 171–182.
22. Gomes BD, Souza GS, Lima MG, Rodrigues AR, Saito CA, da Silva Filho M, Silveira LCL (2008) Color discrimination ellipses of trichromats measured with transient and steady-state visual evoked potentials. *Visual Neuroscience*, 25, 333-339.
23. Gomes BD, Souza GS, Rodrigues AR, Saito CA, Silveira LCL, da Silva Filho M (2006) Normal and dichromatic color discrimination measured with transient visual evoked potential. *Visual Neuroscience*, 23, 617-627.
24. Gomes BD, Souza GS, Saito CA, da Silva Filho M, Rodrigues AR, Ventura DF, Silveira LCL (2010) Cone contrast influence on components of the pattern onset / offset VECP. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 30, 518-524.
25. Gouras P (1968) Identification of cone mechanisms in monkey ganglion cells. *Journal of Physiology (London)*, 199, 533-547.
26. Gross CG, Bender DB, Rocha-Miranda CEG (1969) Visual receptive fields of neurons in inferotemporal cortex of the monkey. *Science*, 166, 1303-1306.
27. Gross CG, Rocha-Miranda CEG, Bender DB (1972) Visual properties of neurons in inferotemporal cortex of the macaque. *Journal of Neurophysiology*, 35, 96-111.

28. Hicks, T. P., B. B. Lee, and T. R. Vidyasager (1983) The responses of cells in the macaque lateral geniculate nucleus to sinusoidal gratings. *Journal of Physiology*, 337, 183-200.
29. Hubel DH, Wiesel TN (1960) Receptive fields of optic nerve fibres in the spider monkey. *Journal of Physiology (London)*, 154, 572-580.
30. Hubel DH, Wiesel TN (1968) Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *Journal of Physiology (London)*, 195, 215-243.
31. Ishihara S (1997). The series of plates designed as a test for colour-deficiency. The 38 plates edition. Tokyo, Japan: Kanehara.
32. Jacobs GH, De Valois RL (1965) Chromatic opponent cells in squirrel monkey lateral geniculate nucleus. *Nature*, 206, 487-489.
33. Kaplan E, Shapley RM (1982) X and Y cells in the lateral geniculate nucleus of macaque monkeys. *Journal of Physiology*, 330, 125-143.
34. Kaplan E, Shapley RM (1986) The primate retina contains two types of ganglion cells, with high and low contrast sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 83, 2755-2757.
35. Kinney J. A. S., McKay C. L. (1974). Test of color-defective vision using the visual evoked response. *Journal of the Optical Society of America*, 64, 1244-1250.
36. Klistorner A., Crewther D. P., Crewther S. G. (1997). Separate magnocellular and parvocellular contributions from temporal analysis of the multifocal VEP. *Vision Research*, 37, 2161-2169.
37. Kulikowski J. J., Murray I. J., Parry N. R. A. (1989). Electrophysiological correlates of chromatic-opponent and achromatic stimulation in man. *Documenta Ophthalmologica*, 52, 145-153.

38. Kulikowski J. J., Parry N. R. A. (1987). Human occipital potentials evoked by achromatic or chromatic checkerboards and gratings. *Journal of Physiology*, 388, 45.
39. Kulikowski J. J., Robson A. G., McKeefry D. J. (1996). Specificity and selectivity of chromatic visual evoked potentials. *Vision Research*, 36, 3397–3401.
40. Lee BB, Martin PR, Valberg A (1989a) Sensitivity of macaque retinal ganglion cells to chromatic and luminance flicker. *Journal of Physiology (London)*, 414, 223-243.
41. Lee BB, Martin PR, Valberg A (1989b) Amplitude and phase of responses of macaque retinal ganglion cells to flickering stimuli. *Journal of Physiology (London)*, 414, 245-263.
42. Lee BB, Martin PR, Valberg A (1989c) The physiological basis of heterochromatic flicker photometry demonstrated in the ganglion cells of the macaque retina. *Journal of Physiology (London)*, 404, 323-347.
43. Lee BB, Silveira LCL, Yamada ES, Hunt DM, Kremers J, Martin PR, Troy JB, da Silva Filho M (2000) Visual responses of ganglion cells of a New World primate, the capuchin monkey, *Cebus apella*. *Journal of Physiology (London)*, 528, 573-590.
44. Lee BB, Sun H, Valberg A (2011) Segregation of chromatic and luminance signals using a novel grating stimulus. *Journal of Physiology (London)*, 589, 59-73.
45. Li X, Chen Y, Lashgari R, Bereshpolova Y, Swadlow HA, Lee BB, Alonso M (2014) Mixing of chromatic and luminance retinal signal in primate area V1. *Cerebral Cortex*, DOI 10.1093/cercor/bhu002.
46. Martin PR, White AJR, Goodchild AK, Wilder HD, Sefton AE (1997) Evidence that blue-on cells are part of the third geniculocortical pathway in primates. *European Journal of Neuroscience*, 9, 1536-1541.

47. McKeefry, D.J.; Kulikowski, J.J.; Robson, A.G. Specificity and selectivity of chromatic visual evoked potentials. *Vision Research*. v. 36, n. 21, pgs. 3397-3401, 1996;
48. Mollon JD, Jordan G (1988) Eine evolutionäre Interpretation des menschlichen Farbensehens. *Die Farbe*, 35, 139-170.
49. Mullen KT (1985) The contrast sensitivity of human colour vision to red-green and blue-yellow chromatic gratings. *Journal of Physiology (London)*, 359, 381-400.
50. Murray, I.J.; Parry, N.R.A.; Carden, D.; Kulikowski, J.J. Human visual evoked potentials to chromatic and achromatic gratings. *Clinical Vision Sciences*. v. 1, pgs. 231-244, 1987;
51. Nakayama K, Mackeben M (1982) Steady state visual evoked potentials in the alert primate. *Vision Research*, 22, 1261-1271.
52. Odom JV, Bach M, Barber C, Brigell M, Marmor MF, Tormene AP, Holder GE, Vaegan. Visual evoked potentials standard (2004). *Documenta Ophthalmologica*, 108, 115-123, 2004.
53. Parry NR, Murray IJ, Panorgias A, McKeefry DJ, Lee BB, Kremers J (2012) Simultaneous chromatic and luminance human electroretinogram responses. *Journal of Physiology (London)*, 590, 3141-3154.
54. Porciatti V., Sartucci F. (1999). Normative data for onset VEPs to red-green and blue-yellow chromatic contrast. *Clinical Neurophysiology*, 110, 772–781.
55. Rabin, J.; Switkes, E.; Crognale, M.; Schneck, M.E.; Adams, A.J. Visual evoked potentials in three-dimensional colour space: correlates of spatio-chromatic processing. *Vision Research*, n. 34, pgs. 2657-2671, 1994.
56. Regan D., Spekreijse H. (1974). Evoked potential indications of colour blindness. *Vision Research*, 14, 89–95.

57. Rudvin I, Valberg A, Kilavik BE (2000) Visual evoked potentials and magnocellular and parvocellular segregation. *Visual Neuroscience*, 17, 579-590.
58. Shapley, R. & Perry, V. H. Cat and monkey retinal ganglion cells and their visual functional roles. *Trends in Neuroscience*. n. 9, pgs. 229-235, 1986.
59. Silveira LCL, Lee BB, Yamada ES, Kremers J, Hunt DM, Martin PR, Gomes F (1999) Ganglion cells of a short wavelength sensitive cone pathway in New World monkeys: morphology and physiology. *Visual Neuroscience*, 16, 333-343.
60. Sincich LC, Park KF, Wohlgenuth MJ, Horton JC (2004) Bypassing V1: a direct geniculate input to area MT. *Nature Neuroscience*, 7, 1123-1128.
61. Souza GS, Gomes BD, Lacerda EMCB, Saito CA, da Silva Filho M, Silveira LCL (2008) Amplitude of the transient visual evoked potential (tVEP) as a function of achromatic and chromatic contrast: contribution of different visual pathways. *Visual Neuroscience*, 25, 317-325.
62. Souza GS, Gomes BD, Saito CA, Silva-Filho M, Silveira LCL (2007) Spatial luminance contrast sensitivity measured with transient VEP: comparison with psychophysics and evidence of multiple mechanisms. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48, 3396-3404.
63. Sutter EE (2000) The interpretation of multifocal binary kernels. *Documenta Ophthalmologica*, 100, 49-75.
64. Suttle C. M., Harding G. F. A. (1999). Morphology of transient VEPs to luminance and chromatic pattern onset and offset. *Vision Research*, 39, 1577–1584.
65. Szmajda, B.A.; Buzás, P.; Blessing, E.M.; Martins, P.R. Specificity of M and L cone inputs to receptive fields in the parvocellular pathway: random wiring with functional bias. *The Journal of Neuroscience*. v. 25, n. 43, pgs. 11148-11161, 2006.

66. Szmajda, B.A.; Grunert, U.; Martin, P.R. Retinal ganglion cell inputs to the koniocellular pathway. *The Journal of Comparative Neurology*. v. 50, n. 3, pgs. 251-268, 2008.
67. Valberg A, Rudvin I (1997) Possible contributions of magnocellular- and parvocellular-pathway cells to transient VEPs. *Visual Neuroscience*, 14, 1-11.
68. Wiesel TN, Hubel DH (1966) Spatial and chromatic interactions in the lateral geniculate body of the rhesus monkey. *Journal of Neurophysiology*, 29, 1115-1156.
69. Zemon V, Gordon J (2006) Luminance-contrast mechanisms in humans: visual evoked potentials and a nonlinear model. *Vision Research*, 46, 4163-4180.

## ANEXO I

### Explicação sobre significado fisiológico de *kernels* e seus *slices*.

Os registros eletrofisiológicos convencionais como eletroretinograma e potencial cortical provocado visual são obtidos a partir de um processo chamado de promediação. Na promediação são reunidas amostras dos registros e é calculada a média delas para representar o conjunto. Com a promediação os eventos aleatórios ou que não estejam associados aos estímulos periódicos apresentados tendem a diminuir de energia e prevalecem as variações elétricas que estão em sincronia com o estímulo.

No entanto com os registros eletrofisiológicos pseudo-aleatórios como o eletroretinograma multifocal ou potencial cortical multifocal o processo para a geração da resposta é diferente. Inicialmente, a apresentação dos estímulos não é periódica. Os estímulos são apresentados seguindo os comandos inseridos em uma sequência binária pseudo-aleatória chamada sequência-m. As sequências-m recebem o nome de pseudo-aleatória porque apesar de não apresentarem um padrão lógico de sequenciamento de seus elementos, a geração desses elementos para a sequência obedece a um processo chamado *maximal linear feedback shift registers*<sup>1</sup>.

Como as sequências-m são binárias (apresentam dois valores diferentes, como 1 e -1, ou 0 e 1, ou qualquer outra combinação de dois números. Os números são realmente representativos para as sequências!!!), associa-se a cada um dos números constituintes da sequência um estímulo específico que será apresentado no estimulador em tempos com durações periódicas (chamados de período base). A extensão da sequência-m é determinada pela valor  $2^m-1$ , onde m é o indicador do comprimento da sequência. Como os estimuladores apresentam duração discreta (*frames*) para apresentar diferentes quadros ou estímulos, cada elemento da sequência-m é lido pelo computador e é o indicador a cada quadro de apresentação qual estímulo será mostrado no estimulador.

Um observador com eletrodos colocados no olho ou no crânio irá observar a apresentação dos estímulos ao longo de toda a extensão das sequências-m e terá os potenciais bioelétricos relacionados ao estímulo registrados e salvos no computador. Com o intuito de extrair os sinais relacionados com os eventos mostrados durante a estimulação, é usado um processo denominado de correlação cruzada e a resultante deste processo é denominado kernel.

---

<sup>1</sup> Não há uma tradução consagrada para a língua portuguesa para o termo *maximal linear feedback shift registers*. Em tradução literal, pode-se sugerir que fosse **registro de deslocamento de retroalimentação linear**.

A correlação cruzada é um processo matemático que compara a similaridade de duas funções duas funções. Nos pontos de maior similaridade os valores da correlação são maiores que nos pontos de menor similaridade. Sendo assim, é realizada uma correlação cruzada entre uma sequência derivada da sequência-m e o registro original obtido da estimulação.

Antes de explicarmos a correlação cruzada em si, é preciso entender o que é a sequência derivada da sequência-m. O processo de extração de respostas à partir de estímulos pseudo-aleatórios permite que sejam extraídas informações referentes a vários tipos de combinações de estímulos que se sucedem no tempo. Como já foi dito anteriormente, a resultante do processo de correlação cruzada é chamada de kernel, no entanto pode-se extrair um número infinito de kernels à partir de um estímulo pseudo-aleatório. Os kernels resultantes da interação de informações oriundas de um estímulo e que não importa quais estímulos foram apresentados anteriormente são chamados de kernels de primeira ordem, enquanto os kernels resultantes da interação de informações advindas de uma sequência de dois estímulos são denominados kernels de segunda ordem. Uma sequência de dois estímulos pode ser representada por dois estímulos imediatamente consecutivos ou intervalados por 1 ou mais períodos bases. No caso dos kernels resultantes da interação das respostas para dois estímulos imediatamente consecutivos (diferença de um período base), eles recebem denominação de primeiro slice do kernel de segunda ordem; no caso dos kernels resultantes da interação das respostas para dois estímulos separados por dois períodos bases, eles recebem denominação de segundo slice do kernel de segunda ordem; no caso dos kernels resultantes da interação das respostas para dois estímulos separados por três períodos bases, eles recebem denominação de terceiro slice do kernel de segunda ordem; no caso.... O raciocínio aqui apresentado deve ser expandido para sequências de 3 estímulos (kernel de terceira ordem), 4 estímulos (kernel de quarta ordem) e com mais estímulos.

Para a geração de cada um dos kernels de diferentes ordens, a sequência que derivará da sequência-m usa a seguinte lógica. Para o kernel de primeira ordem, caso o período base inicie com a leitura de um elemento 1 da sequência m, o intervalo do registro após o período base de  $j$  ms será multiplicado por 1, e caso o período base inicie com a leitura de um elemento -1 da sequência-m, o intervalo seguinte ao período base de  $j$  ms serão multiplicados por -1. As médias dos intervalos seguidos aos elementos 1s e -1s da sequência-m serão adicionados e o resultado final será o kernel de primeira ordem. Para o primeiro slice do kernel de segunda ordem, caso o período base inicie com a leitura de



um elemento 1 ou -1 da sequência  $m$  e dois períodos bases atrás também exista um o mesmo elemento na sequência  $m$ , o intervalo do registro de  $j$  ms após o período base será multiplicado por 1, e caso o período base inicie com a leitura de um elemento 1 ou -1 da sequência- $m$  e dois períodos bases atrás exista o elemento oposto na sequência- $m$ , o intervalo de  $j$  ms seguinte ao período base serão multiplicados por -1. As médias dos intervalos multiplicados por 1 e -1 serão adicionados e o resultado final será o primeiro slice do kernel de segunda ordem. Para os slices superiores do kernel de segunda ordem, a única diferença será no número de períodos bases atrás que vai se avaliar o valor da sequência- $m$ .

Os kernels representam abstrações matemáticas de eventos biológicos gerados por estímulos visuais. Várias investigações tem sido realizadas, inclusive esta dissertação, para desvendar os significados biológicos deles.