

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

**“Sensibilidade Temporal e Espectral das Células Ganglionares Retinianas
M e P de Primatas Neotropicais”**

CÉZAR AKIYOSHI SAITO

Belém

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CÉZAR AKIYOSHI SAITO

**“Sensibilidade Temporal e Espectral das Células Ganglionares Retinianas
M e P de Primatas Neotropicais”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular (Área de Concentração Neurociências), Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira.

Belém

2007

Saito, César Akiyoshi

SENSIBILIDADE TEMPORAL E ESPECTRAL DAS CÉLULAS
GANGLIONARES RETINIANAS M E P DE PRIMATAS NEOTROPICAIS. Belém, Pará,
UFPA / CCB, 2007.

xv, 138 f

Tese: Doutor em Ciências (Neurociências)

1. Vias paralelas de processamento visual. 2. Antropóides platirríneos. 3. Registro eletrofisiológico unitário extracelular. 4. Sensibilidade temporal. 5. Sensibilidade espectral. I. Universidade Federal do Pará / Centro de Ciências Biológicas. II. Título.

**“Sensibilidade Temporal e Espectral das Células Ganglionares Retinianas M e P de
Primates Neotropicais”**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular (Área de Concentração Neurociências), Universidade Federal do Pará, pela Comissão Examinadora formada pelos professores:

Presidente:

Professor Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira – Orientador

Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Membros:

Professor Dr. Cláudio Tadeu Daniel Ribeiro

Departamento de Imunologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz

Professor Dr. Diogo Onofre Gomes de Souza

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professora Dra. Dora Fix Ventura

Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo

Professor Dr. Olavo de Farias Galvão

Departamento de Psicologia Experimental, Centro de Filosofia e Ciências Humanas,
Universidade Federal do Pará

Professora Dra. Silene Maria de Araújo Lima (suplente)

Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Belém, 20 de abril de 2007

Aos meus pais: Masayoshi Saito e Joana Ayame Igarashi Saito

À Gleidy Kessy Abdon Alves Saito

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho só foi possível graças à ajuda imprescindível de algumas pessoas e de algumas instituições.

Agradeço ao Professor Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira pela sua inestimável orientação e pela valiosa oportunidade dada a mim que, advindo do Curso de Bacharelado em Ciências da Computação do Centro de Ciências Exatas e Naturais, fui formalmente apresentado e incentivado a trabalhar com o mais eficiente dispositivo de processamento de informação existente, o cérebro.

Ao Professor Dr. Barry Buchanan Lee, por consentir com o uso dos dados experimentais para a elaboração desse documento.

Ao Professor Dr. Jan Kremers pelas sugestões na análise dos dados.

Ao Professor Dr. Manoel da Silva Filho pela ajuda durante as sessões de registros eletrofisiológicos.

Ao Centro Nacional de Primatas, pela doação de parte dos animais experimentais.

Agradeço a todos os amigos e amigas que conheci durante esses anos de LNEOC pelos momentos valiosos de ensinamento e de convivência harmoniosa.

Ao Curso de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular e aos seus Coordenadores Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira, Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço-Diniz e, mais recentemente, Dr. Cláudio Guedes Salgado, pela sua sempre presente eficiência e disponibilidade.

Ao Centro de Ciências Exatas e Naturais e ao Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, eu agradeço pela minha formação acadêmica.

“Well, to say the brain is a computer is correct but misleading. It’s really a highly specialized information-processing device – or rather, a whole lot of them. Viewing our brains as information-processing devices is not demeaning and does not negate human values. If anything, it tends to support them and may in the end help us to understand what from an information-processing view human values actually are, why they have selective value, and how they are knitted into the capacity for social mores and organization with which our genes have endowed us.”

1982, David Marr

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Neurofisiologia Eduardo Oswaldo Cruz, Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, sob a orientação do Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira. Estavam em vigência suportes financeiros concedidos pelas seguintes agências: FAPESP-Temático Processo n° 02/12733-8 (Coordenadora: Profa. Dra. Dora Fix Ventura); CAPES-PROCAD Processo n° 0019/01-1 (Coordenadora: Profa. Dra. Dora Fix Ventura); CNPq Edital Universal Proc. n° 479118/2001-9 (Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira); CNPq Processo n° 521640/96-2 (Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira); CNPq-PNOPG Processo n° 550663/2001-0 (Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira); CNPq-PRONEX / SECTAM-FUNTEC / FADESP Convênio n° 1079 (Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira); CNPq Edital Universal Proc. n° 471815/2004-7 (Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira). O autor recebeu bolsa de doutorado CAPES-PROCAD e bolsa de auxílio técnico CNPq-BAT durante a realização do presente trabalho.

RESUMO

Os primatas são os únicos mamíferos que possuem células ganglionares M e P na retina. Eles podem ser divididos em prossímios e antropóides, sendo que estes últimos compreendem os catarríneos (comumente chamados de antropóides do Velho Mundo) e platirríneos (comumente chamados de antropóides do Novo Mundo ou neotropicais). Todos os catarríneos até então estudados, incluindo o homem, são diurnos e têm visão tricromática. Por outro lado, os platirríneos podem ser diurnos ou noturnos e a grande maioria possui um polimorfismo sexual quanto à visão de cores: todos os machos são dicromatas e as fêmeas podem ou não ser tricromatas. No presente trabalho, foram estudados três platirríneos: *Alouatta* (diurno e tricromata), *Cebus* macho (diurno e dicromata) e *Aotus* (noturno e monocromata). Foi correlacionado os diferentes estilos de vida e a presença ou não do polimorfismo sexual com as propriedades temporais e espectrais das células ganglionares retinianas M e P. Foram obtidos registros *in vivo* de células parafoveais isoladas usando microeletrodos de metal e vidro. Os seguintes estímulos foram usados: pulsos de luminância e de cor para classificar a célula em fásica ou tônica; oscilações temporais de luminância e de cor para levantar a função de transferência de modulação temporal; dois LEDs, 554 e 638 nm foram modulados em contrafase e em diferentes proporções ou em diferentes fases relativas mas com a mesma amplitude para estudar as propriedades espectrais. Em todos os primatas estudados, foram encontradas células ganglionares fisiologicamente classificadas como células M e P. As respostas celulares aos pulsos e oscilações temporais foram similares àquelas de catarríneos: foram observadas células fásicas com um mecanismo de controle de ganho de contraste, classificadas como M, e células tônicas e lineares, classificadas como P. As células do *Alouatta* e do *Cebus* são dominadas pelos sinais dos cones e as do *Aotus* pelos sinais dos bastonetes. As células P do *Alouatta* têm otonomia cromática como em catarríneos, enquanto as células P do *Cebus* macho e do *Aotus* não têm otonomia cromática, sendo “cegas para a cor”. Os resultados corroboram os achados morfológicos de que as vias M e P estão presentes tanto em catarríneos quanto platirríneos. As células ganglionares M e P dos platirríneos são similares, qualitativamente, às células dos catarríneos quanto às propriedades temporais, mas bastante diferentes quanto às propriedades espectrais.

ABSTRACT

Primates are the only mammals with M and P ganglion cells in the retina. They comprise prosimians and anthropoids. The later are divided in catarrhines (Old World anthropoids) and platyrrhines (New World anthropoids). All catarrhines so far studied have diurnal habits and are trichromats. On the other hand, platyrrhines can be diurnals or nocturnals and the majority of them shows a polymorphic color vision: all males are dichromats and females can be dichromats or trichromats. Three neotropical primates were studied: *Alouatta* (diurnal and trichromat), male *Cebus* (diurnal and dichromat), and *Aotus* (nocturnal and monochromat) to correlate different life-styles and the sexual polymorphism with temporal and spectral properties of M and P retinal ganglion cells. Parafoveal retinal ganglion cells were recorded *in vivo* using tungsten-in-glass extracelular microelectrodes. Several stimuli were used to characterize cell response. Luminance and chromatic pulses were used to distinguish between phasic and tonic cells. Luminance and chromatic temporal oscillations were used to measure cell temporal modulation transfer function. Two LEDs of 554 nm and 638 nm, respectively, were modulated in counterphase with different proportions or with different relative phases to study M and P cell spectral properties. In all three primates, we found ganglion cells which were putatively classified as belonging to the M or P pathways. Cell responses to pulses and oscillations were similar to those from catarrhines: M ganglion cells were phasic and showed a gain contrast control mechanism while P ganglion cells were tonic and quite linear. *Alouatta* and *Cebus* cells responses were dominated by cones input, while *Aotus* cells responses were dominated by rods input. *Alouatta* P cells showed chromatic opponency, similar to those found in catarrhines, while male *Cebus* P cells were color blind versions of P cells when compared with those found in catarrhines and in *Alouatta*. These results support previous morphological studies, which suggest that catarrhines M and P retinal pathways share similar properties with platyrrhines. M and P ganglion cells from platyrrhines have similar temporal properties when compared to those found in catarrhines but exhibit different spectral properties which could be predicted by animal colour vision phenotype.

	SUMÁRIO	
1	INTRODUÇÃO	1
1.1	VIAS PARALELAS DE PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO VISUAL	1
1.2	ASPECTOS MORFOFUNCIONAIS GERAIS DAS CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS DE PRIMATAS.....	3
1.3	PROPRIEDADES TEMPORAIS E ESPECTRAIS DAS CÉLULAS GANGLIONARES M E P DE CATARRÍNEOS.....	7
1.4	ECOLOGIA DO SISTEMA VISUAL DOS PLATIRRÍNEOS	13
1.5	OBJETIVOS	19
2	MATERIAIS E MÉTODOS	20
2.1	ANIMAIS	20
2.2	PREPARAÇÃO DO ANIMAL	20
2.2.1	Sistema de manutenção das funções vitais	20
2.2.2	Procedimentos cirúrgicos para os olhos do animal	23
2.3	SISTEMA COMPUTADORIZADO PARA ESTIMULAÇÃO VISUAL E REGISTRO UNITÁRIO.....	23
2.3.1	Hardware	23
2.3.2	Estimulador visual	24
2.3.3	Softwares	24
2.4	REGISTRO UNITÁRIO EXTRACELULAR DE CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS	26
2.4.1	Eletródio para registro unitário extracelular	26
2.4.2	Amplificação e discriminação do registro unitário	26
2.4.3	Aquisição do registro unitário	26
2.5	ESTIMULAÇÃO VISUAL E ANÁLISE DOS REGISTROS UNITÁRIOS ..	28
2.5.1	Transferência dos arquivos do PDP-11	28
2.5.2	Pulso de luminância e de cor	29
2.5.3	Função de Transferência de Modulação Temporal (FTMT) de luminância ou de cor	31
2.5.4	Função de sensibilidade espectral dos fotorreceptores	34
2.5.5	Fotometria com flicker heterocromático	39
2.5.6	Protocolo de fase	44
3	RESULTADOS	48
3.1	CLASSIFICAÇÃO FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS GANGLIONARES.....	50
3.1.1	<i>Alouatta caraya</i>	50
3.1.1.1	Células ganglionares fásicas	50
3.1.1.2	Células ganglionares tônicas.....	53
3.1.2	<i>Cebus apella</i>	55
3.1.2.1	Células ganglionares fásicas	56
3.1.2.2	Células ganglionares tônicas.....	58
3.1.3	<i>Aotus infulatus</i>	60
3.1.3.1	Células ganglionares fásicas	61
3.1.3.2	Células ganglionares tônicas.....	62
3.2	GANHOS DE CONTRASTE DE LUMINÂNCIA E DE COR.....	63
3.2.1	<i>Alouatta caraya</i>	66
3.2.1.1	Células ganglionares fásicas	66
3.2.1.2	Células ganglionares tônicas.....	68
3.2.2	<i>Cebus apella</i>	71
3.2.2.1	Células ganglionares fásicas	71

3.2.2.2	Células ganglionares tônicas.....	73
3.2.3	<i>Aotus infulatus</i>	75
3.2.3.1	Células ganglionares fásicas	75
3.2.3.2	Células ganglionares tônicas.....	77
3.3	RESPONSIVIDADE PARA A FOTOMETRIA COM FLICKER HETEROCROMÁTICO.....	79
3.3.1	<i>Alouatta caraya</i>	79
3.3.1.1	Células ganglionares fásicas	79
3.3.1.2	Células ganglionares tônicas.....	83
3.3.2	<i>Cebus apella</i>	86
3.3.2.1	Fenótipo de 535 nm	86
3.3.2.2	Fenótipo de 563 nm	90
3.3.3	<i>Aotus infulatus</i>	93
3.4	RESPONSIVIDADE AO PROTOCOLO DE FASE	96
3.4.1	<i>Alouatta caraya</i>	96
3.4.1.1	CÉLULAS GANGLIONARES FÁSICAS.....	96
3.4.1.2	CÉLULAS GANGLIONARES TÔNICAS.....	100
3.4.2	<i>Cebus apella</i>	103
3.4.2.1	FENÓTIPO DE 535 NM	103
3.4.2.2	FENÓTIPO DE 563 NM	106
3.4.3	<i>Aotus infulatus</i>	109
4	DISCUSSÃO.....	112
4.1	REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO UNITÁRIO DE CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS COMO FERRAMENTA PARA O ESTUDO DO SISTEMA VISUAL.....	112
4.2	CLASSIFICAÇÃO FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS GANGLIONARES... 113	113
4.3	A PROVÁVEL TRICROMACIA DO ALOUATTA.....	114
4.4	DETERMINAÇÃO DO FOTORRECEPTOR M/L PRESENTE NA RETINA DE CEBUS DICROMATAS.....	114
4.5	APLICAÇÃO DOS PARADIGMAS DE FOTOMETRIA COM FLICKER HETEROCROMÁTICO E DO PARADIGMA DE FASE PARA ESTUDAR AS CÉLULAS GANGLIONARES DO AOTUS.....	116
4.6	EFEITO DA FREQUÊNCIA TEMPORAL NA CONTRIBUIÇÃO DOS CONES E BASTONETES NA RESPOSTA DA CÉLULA GANGLIONAR	117
4.7	POR QUAL VIA PARALELA O SINAL DO BASTONETE CHEGA NA CÉLULA GANGLIONAR?	118
4.8	A EVOLUÇÃO DA VISÃO DE CORES NOS ANTROPÓIDES CATARRÍNEOS E PLATIRRÍNEOS.....	118
5	CONCLUSÃO	121
	REFERÊNCIAS	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estimulação por pulsos de luminância.....	30
Figura 2.	Estimulação por pulsos de cor	31
Figura 3.	Estimulação por oscilações de luminância	32
Figura 4.	Estimulação por oscilações de cor	33
Figura 5.	Funções de sensibilidade espectral dos fotorreceptores do <i>Alouatta</i> , <i>Cebus</i> e <i>Aotus</i>	37
Figura 6.	Estimulação pela fotometria com <i>flicker</i> heterocromático	40
Figura 7.	Resposta esperada dos fotorreceptores para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático	42
Figura 8.	Estimulação pelo protocolo de fase	45
Figura 9.	Resposta esperada dos fotorreceptores para o protocolo de fase.....	47
Figura 10.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Alouatta</i> para pulsos de luminância.....	51
Figura 11.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para pulsos de luminância.....	52
Figura 12.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para pulsos de cor.	53
Figura 13.	Respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para pulsos de luminância.....	54
Figura 14.	Respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para pulsos de cor.	55
Figura 15.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata para pulsos de luminância.....	57
Figura 16.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata para pulsos de cor.....	58
Figura 17.	Respostas de uma célula ganglionar tônica do <i>Cebus</i> dicromata para pulsos de luminância.....	59
Figura 18.	Respostas de uma célula ganglionar tônica do <i>Cebus</i> dicromata para pulsos de cor.	60
Figura 19.	Respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i> para pulsos de luminância.....	61
Figura 20.	Respostas de uma célula ganglionar tônica do <i>Aotus</i> para pulsos de luminância.	62
Figura 21.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para oscilações de luminância.	64
Figura 22.	Exemplo de amplitude e fase das respostas, e da FTMT de luminância de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i>	65
Figura 23.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i>	67
Figura 24.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar tônica do <i>Alouatta</i>	69
Figura 25.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de cor de uma célula ganglionar tônica do <i>Alouatta</i>	70
Figura 26.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Cebus</i> dicromata.....	72
Figura 27.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar tônica do <i>Cebus</i> dicromata.....	74
Figura 28.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i>	76

Figura 29.	Amplitude e fase das respostas, e a FTMT de luminância de uma célula ganglionar tônica do <i>Aotus</i>	78
Figura 30.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	81
Figura 31.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	82
Figura 32.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	84
Figura 33.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	85
Figura 34.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 535 nm, para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	88
Figura 35.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 535 nm, para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	89
Figura 36.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 563 nm, para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	91
Figura 37.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 563 nm, para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	92
Figura 38.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	94
Figura 39.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i> para a fotometria com <i>flicker</i> heterocromático.	95
Figura 40.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para o protocolo de fase.	98
Figura 41.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>off</i> do <i>Alouatta</i> para o protocolo de fase.	99
Figura 42.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para o protocolo de fase.	101
Figura 43.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar tônica <i>M+L-</i> do <i>Alouatta</i> para o protocolo de fase.	102
Figura 44.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 535 nm, para o protocolo de fase.	104
Figura 45.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 535 nm, para o protocolo de fase.	105
Figura 46.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 563 nm, para o protocolo de fase.	107
Figura 47.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Cebus</i> dicromata, fenótipo de 563 nm, para o protocolo de fase.	108
Figura 48.	Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i> para o protocolo de fase.	110
Figura 49.	Amplitude e fase das respostas de uma célula ganglionar fásica <i>on</i> do <i>Aotus</i> para o protocolo de fase.	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Antropóides do Novo Mundo	15
Tabela 2.	Configurações do <i>software</i> FLASHA.....	25
Tabela 3.	Configurações do software FASTER	25
Tabela 4.	Sensibilidade espectral dos fotorreceptores para os LEDs	36
Tabela 5.	Resultados experimentais	49

1 INTRODUÇÃO

O neurocientista inglês David Marr (1945-1980), eminente pesquisador que estudou explicitamente o sistema visual como um dispositivo para o processamento de informação, em sua obra bastante conhecida “Vision”, publicada postumamente em 1982 pelos seus colaboradores, argumenta como o processamento de informação realizado por um sistema qualquer pode ser compreendido a partir do conhecimento sobre esse sistema em três níveis diferentes (MARR, 1982): o da teoria computacional; o da representação e do algoritmo; e o da implementação do *hardware*. O nível mais alto é o da teoria computacional, que trata “do quê” o sistema faz, o “por quê” é computado de um modo particular (e não de outro) e, portanto, implica também em um conjunto de regras que a computação feita pelo sistema tem que satisfazer. O nível intermediário é o da representação e do algoritmo, tratando da representação dos dados de entrada e de saída no sistema e das operações realizadas pelo sistema com os dados de entrada para resultar nos dados de saída. O nível mais baixo é o do *hardware*, o qual abrange a parte material do sistema, incluindo os dados em sua forma física. Em teoria, de posse do conhecimento em todos esses três níveis acerca de um sistema qualquer, seria possível criar artificialmente um dispositivo que efetuasse o processamento de informação realizado por esse sistema. Dispensável dizer que os estudos e teorias de David Marr constituem um importante marco intelectual que continua a inspirar gerações sucessivas de neurocientistas visuais.

A aplicação da teoria de processamento de informação ao sistema visual pressupõe que o mesmo extrai dados de entrada a respeito do mundo, a partir de imagens capturadas por sensor(es) apropriado(s), tendo como objetivo principal a localização e o reconhecimento das entidades externas ao sistema em uma determinada janela temporal e espacial. Caracterizar que informações são extraídas (propriedades das imagens, representação) e qual o conjunto de regras (teoria computacional) que o sistema visual emprega no pré-processamento (algoritmo) dessa informação na retina (os sensores apropriados, *hardware*), é um passo importante para o entendimento da integração que ocorre nas áreas corticais visuais superiores (MARR, 1982).

1.1 VIAS PARALELAS DE PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO VISUAL

As células ganglionares são neurônios de segunda ordem que estão a apenas duas sinapses dos eventos da fototransdução. Elas representam a ligação entre os circuitos retinianos e os níveis de processamento cortical, pois seus axônios formam o nervo óptico, a única via de saída, na retina, da informação visual. Portanto, a camada de células ganglionares

é um local importante para estudar como os neurônios retinianos da via visual codificam a representação neural da informação visual, a qual então é enviada para os centros visuais superiores em vias paralelas. A investigação da fisiologia das propriedades funcionais das células ganglionares, através da combinação de estimulação visual e registro elétrico da atividade dessas células, levou à formulação de duas hipóteses distintas de como esta representação pode ser construída pelos neurônios retinianos.

Uma delas, a qual se originou dos trabalhos realizados na retina do coelho e de vertebrados inferiores, propõe a existência de *trigger features*, configurações especiais de estímulos que fariam disparar classes específicas de células ganglionares, quando apresentados no campo visual do animal (BARLOW, 1961). Por exemplo, um estudo pioneiro de Barlow mostrou que na retina da rã existe uma classe de células ganglionares que responde tônica e vigorosamente somente na presença de um disco preto se movendo dentro de seu campo receptivo. Em experimentos comportamentais, quando esse disco era apresentado a uma rã, a mesma dirigia a sua atenção para o estímulo e realizava ações comumente observadas em seu comportamento alimentar: pulos e lançamentos da língua em direção ao disco. À luz desses resultados, Horace Barlow sugeriu a existência de neurônios que funcionariam como *bug detectors* na retina desse vertebrado (BARLOW, 1953).

Seis anos depois, Lettvin e colaboradores trabalhando no MIT (*Massachusetts Institute of Technology*) registraram no nervo óptico da rã quatro tipos de fibras nervosas, cada uma com uma responsividade diferente e relacionada a um determinado aspecto da imagem. Uma dessas fibras, não-mielinizada, não respondia a mudanças na iluminação ambiente mas respondia tonicamente caso um pequeno alvo, com uma grande curvatura positiva, fosse deslocado ao longo do campo receptivo de sua respectiva célula ganglionar. Essas células ganglionares foram classificadas como detectoras de convexidade e provavelmente constituem o substrato retiniano anátomo-funcional para a capacidade de *bug detector* da rã (Lettvin *et al.*, 1959). A extração do aspecto relevante do estímulo ainda nos primeiros níveis da via visual implica que um nível alto de processamento de informação já ocorreu antes mesmo da saída retiniana, provavelmente envolvendo alguma forma de transformação não linear dos sinais provenientes dos fotorreceptores.

Uma outra hipótese descreve as respostas das células ganglionares em termos das propriedades temporais e espaciais diretamente relacionadas aos parâmetros físicos fundamentais do estímulo (KUFFLER, 1953; ENROTH-CUGELL & ROBSON, 1966). Essa hipótese supõe que existem regras para a tradução de parâmetros de intensidade da imagem óptica para a cascata de fototransdução e para a atividade neuronal subsequente, baseadas em

operações lineares. Essa abordagem tem sido útil para caracterizar a fisiologia das células ganglionares nos mamíferos em geral, incluindo os primatas, através da classificação das células ganglionares e da discussão de seus papéis funcionais na visão. Foi possível, através dela, demonstrar a correlação entre morfologia e fisiologia das classes mais comuns de células ganglionares, as células M e P (SHAPLEY & PERRY, 1986; DACEY & LEE, 1994), as quais constituem, respectivamente, cerca de 10% e de 80% da população total de células ganglionares (e.g. SILVEIRA *et al.*, 2004a), proporção essa que depende do quadrante retiniano em consideração. Essa abordagem também tem sido útil para estudar os correlatos anátomo-funcionais de outras classes de células ganglionares menos frequentes na retina, mas que possuem papéis fisiológicos para a percepção visual tão importante quanto as células M e P, como é o caso de certos neurônios que constituem a via visual K (DACEY & LEE, 1994; DACEY *et al.*, 2005).

As propriedades fisiológicas dos neurônios das camadas magnocelular, parvocelular e koniocelular no núcleo geniculado lateral do tálamo (*Lateral Geniculate Nucleus*, LGN) são semelhantes, em linhas gerais e respectivamente, às células ganglionares retinianas M, P e K, muito embora sejam observadas certas diferenças sutis quando são usados métodos mais refinados de investigação para comparar as respostas dos neurônios dessas duas estações da via visual (e.g. KAPLAN *et al.*, 1993). De qualquer forma, pode-se generalizar em larga escala sobre as propriedades funcionais dos neurônios das vias M, P e K, seja ao nível retiniano, seja ao nível das camadas do LGN, e até mesmo ao nível do córtex visual primário (V1), visto que o conhecimento atual sobre o assunto sugere que a informação visual transmitida pelas células que compõem essas vias não se misturam entre si até V1. As evidências atuais sugerem que as células das camadas magnocelular e parvocelular do LGN projetam-se em paralelo, respectivamente, para as camadas 4C α e 4C β de V1 (CHATTERJEE & CALLAWAY, 2003; CALLAWAY, 2005; MARTIN, 2004). Por sua vez, as células das camadas koniocelulares do LGN fazem sinapses, sem se misturar com as informações das vias M e P, para as camadas 2/3 e 4A do córtex visual primário (CHATTERJEE & CALLAWAY, 2003; CALLAWAY, 2005; MARTIN, 2004).

1.2 ASPECTOS MORFOFUNCIONAIS GERAIS DAS CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS DE PRIMATAS

O trabalho pioneiro de histologia da retina feita pelo anatomista espanhol Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), laureado com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1906, inclui pouco a respeito da morfologia das células ganglionares dos primatas

(RAMÓN Y CAJAL, 1904). Apesar do anatomista russo Aleksandr Stanislavovich Dogiel (1852-1922), ter corado montagens planas de retinas inteiras humanas com o método de Erlich e descrever três classes de células ganglionares (Dogiel, 1891), duas das quais, pelos desenhos que ele publicou, assemelham-se bastante a células M e P periféricas, foi somente com o estudo clássico do croata Stephen L. Polyak (1889-1955), publicado em 1941, que as primeiras descrições detalhadas de células ganglionares de primatas tornaram-se amplamente conhecidas. Esse trabalho foi seguido, anos mais tarde, em 1969, por outra publicação clássica sobre a retina de primatas, feita pelo inglês Brian B. Boycott (1924-2000) e o americano John E. Dowling (1935-), abrindo caminho definitivamente para os estudos atuais sobre a morfologia das células ganglionares retinianas de primatas. Diferentemente do trabalho de Dogiel, esses dois trabalhos mais recentes valeram-se de secções retinianas transversais coradas pelo método de Golgi. Com esse método, Polyak (1941) e Boycott e Dowling (1969) reconheceram diversas classes de células ganglionares na retina de primatas catarríneos e mostraram que sua morfologia muda com a excentricidade retiniana, definida como a distância da célula estudada em relação a uma referência na retina, usualmente a fóvea em primatas. Para as duas classes mais frequentes, Polyak cunhou os termos *parasol* e *midget*, os quais ainda são usados até hoje, apesar de tradução pouco apropriada para outros idiomas, como o português. Posteriormente, essas células foram chamadas, respectivamente, de células P_{α} e P_{β} (PERRY & COWEY, 1981) ou células A e B (LEVENTHAL *et al.*, 1981), em ambos os casos com o intuito explícito ou implícito de estabelecer um paralelo com as células α e β do gato. Outra classificação, em células M e P (SHAPLEY & PERRY, 1986) pode ser a denominação preferível pois originou-se a partir de uma ampla comparação entre as diversas propriedades morfológicas e funcionais dessas células e valeu-se dos estudos com marcação retrógrada a partir de sítios de injeção mesodiencefálicos (como explicado no parágrafo abaixo).

Um avanço considerável no estudo da morfologia das células ganglionares de primatas foi obtido pela combinação do uso de preparações de montagens planas de retinas inteiras com métodos modernos de marcação neuronal por transporte ou injeção intracelular de traçadores. Alan Cowey, Victor Hugh Perry e colegas, do Departamento de Psicologia Experimental da Universidade de Oxford, estiveram entre os primeiros a empregar essas técnicas para marcar células ganglionares de *Macaca* com peroxidase de raiz forte (*Horse Radish Peroxidase*, HRP) transportada a partir do depósito no nervo óptico, no LGN ou no colículo superior (PERRY & COWEY, 1981, 1984; PERRY *et al.*, 1984; PERRY & SILVEIRA, 1988). Quando o traçador era colocado no nervo óptico, atrás do globo ocular, a

qualidade da marcação obtida era tão boa quanto àquela produzida com o uso do método de Golgi, tornando fácil classificar as células marcadas e medir com precisão seus campos dendríticos e corpos celulares em todas as localizações retinianas (PERRY & COWEY, 1981). Além disso, o uso de montagens planas de retinas inteiras tornou simples a medida da excentricidade das células marcadas.

Usando esses procedimentos, eles quantificaram como os tamanhos dos campos dendríticos e corpos celulares de células M e P de *Macaca* variam em função da excentricidade retiniana (PERRY & COWEY, 1984; PERRY *et al.*, 1984). Eles mostraram também que há uma laminação funcional na região foveal, com as células M ocupando as posições mais externas e as células P as posições mais internas da camada de células ganglionares, multilamelar nessa região (PERRY & SILVEIRA, 1988). Usando a marcação retrógrada a partir dos sítios de projeção da retina, eles mostraram que as células M e P projetam-se, respectivamente, para as camadas magnocelulares (camadas 1 – 2) e parvocelulares (camadas 3 – 6) do LGN, confirmando os resultados previamente obtidos por Leventhal *et al.* (1981). Finalmente, usando uma variação do método neurofibrilar de Gros-Schultze (SILVEIRA & PERRY, 1990), aplicada em montagens planas de retinas inteiras do *Macaca*, a qual cora especificamente as células M, foi possível verificar a distribuição da densidade dessas células na retina desse catarríneo, confirmando as estimativas anteriores feitas com HRP de que elas representam cerca de 10% das células ganglionares em muitas localizações na retina, com exceção do quadrante nasal, onde sua proporção aumenta para 20% (SILVEIRA & PERRY, 1991).

Desde 1981, diferentes grupos de pesquisa têm usado o transporte retrógrado de HRP ou biocitina, assim como a injeção intracelular de *Lucifer Yellow*, HRP, neurobiotina ou biocitina, ou variações aperfeiçoadas de métodos clássicos de coloração neurofibrilar, para marcar células ganglionares em montagens planas de retinas inteiras de diversas espécies de primatas. As células ganglionares M e P foram identificadas em todos os primatas estudados até agora, incluindo o homem (RODIECK *et al.*, 1985; KOLB *et al.*, 1992; DACEY & PETERSEN, 1992), outros catarríneos (LEVENTHAL *et al.*, 1981; PERRY & COWEY, 1981; WATANABE & RODIECK, 1989; SILVEIRA & PERRY, 1991), platirríneos diurnos (LEVENTHAL *et al.*, 1989; de LIMA, 1993; de LIMA *et al.*, 1993, 1996; SILVEIRA *et al.*, 1994; YAMADA, 1995; GHOSH *et al.*, 1996; YAMADA *et al.*, 1996a, b; GOMES, 2001; GOMES *et al.*, 2005), platirríneos noturnos (de LIMA, 1993; de LIMA *et al.*, 1993, 1996; SILVEIRA *et al.*, 1994; YAMADA, 1995; YAMADA *et al.*, 1996a, 2001) e prossímios (YAMADA *et al.*, 1998). Em todos esses primatas, as células M têm corpos celulares

grandes, axônios espessos e árvores dendríticas grandes, com um padrão de ramificação radial, enquanto que as células P têm corpos celulares pequenos, axônios finos e árvores dendríticas pequenas, com um padrão de ramificação denso e retorcido.

Como acontece com certas classes de células ganglionares de outros mamíferos, tais como as células α e β do gato, as células M e P são divididas em duas subclasses de acordo com o nível de ramificação de sua árvore dendrítica na camada plexiforme interna. As células de uma subclasse têm dendritos que se ramificam na parte externa ou lamela *a* da camada plexiforme interna e são chamadas de células M e P externas ou *Ma* e *Pa*, respectivamente. As células da outra subclasse têm dendritos que se ramificam na parte interna ou lamela *b* da camada plexiforme interna e são chamadas de células M e P internas ou *Mb* e *Pb*, respectivamente.

Os estudos fisiológicos têm demonstrado que a retina dos primatas tem uma variedade de classes funcionais de células ganglionares tão grande quanto a variedade de classes morfológicas, sendo as duas classes mais estudadas as células fásicas sem oponência de cores e as células tônicas com oponência verde-vermelha (HUBEL & WIESEL, 1960; GOURAS, 1968; de MONASTERIO & GOURAS, 1975; de MONASTERIO *et al.*, 1975a, b; de MONASTERIO, 1978a, b, c; KAPLAN & SHAPLEY, 1986; LEE *et al.*, 1988, 1989a, b, c, 1990, 1994; PURPURA *et al.*, 1988, 1990; KREMERS *et al.*, 1993; CRONER & KAPLAN, 1995).

A correlação entre morfologia e fisiologia permaneceu baseada em inferências até o desenvolvimento de uma preparação retino-corioidal de primatas *in vitro*, a qual permite a combinação de estimulação luminosa do mosaico de fotorreceptores e o registro elétrico e marcação neuronal intracelular. Usando esse procedimento, Dacey & Lee (1994) foram capazes de confirmar que as células ganglionares fásicas sem oponência de cores da eletrofisiologia correspondiam às células M, enquanto que as células tônicas com oponência verde-vermelha eram as células P. Além disso, com o uso dessa preparação foi possível demonstrar que as subclasses externas e internas das células M e P têm campos receptivos com centro *off* e *on*, respectivamente (DACEY & LEE, 1994).

Foram descritas outras células ganglionares usando critérios morfológicos além das células M e P (PERRY & COWEY, 1984; KOLB *et al.*, 1992; RODIECK & WATANABE, 1993; YAMADA *et al.*, 2005). Uma delas é uma célula biestratificada de campo dendrítico pequeno, da mesma ordem de magnitude do campo dendrítico das células M e cerca de três vezes maior em diâmetro que o das células P, numa dada localização da retina. Outras células perfazem um grupo heterogêneo de células monoestratificadas e

biestratificadas de campo grande (cerca de três vezes maior em diâmetro que o das células M e biestratificadas pequenas) ou gigante (cerca de três vezes maior em diâmetro que o das células de campo grande). A eletrofisiologia também mostra que existem outras classes além das células M e P, incluindo células tônicas com oponência azul-amarela, células extremamente fásicas e células que respondem somente a estímulos móveis (de MONASTERIO & GOURAS, 1975; de MONASTERIO *et al.*, 1975a; de MONASTERIO, 1978a). Através da marcação intracelular de células com oponência azul *on* / amarelo *off*, identificadas eletrofisiologicamente, Dacey & Lee (1994) foram capazes de mostrar que elas eram as células biestratificadas de campo pequeno, previamente descritas com técnicas morfológicas. Essas células constituem uma outra via paralela de processamento visual, a via K (koniocelular) a qual é responsável pelo canal psicofísico de cor azul / amarelo (MARTIN, 2004).

Presentemente, através de técnicas semelhantes, estão sendo estudadas as outras classes de células ganglionares para estabelecer a correspondência entre forma e função. Várias dessas classes celulares projetam-se para as camadas koniocelulares do LGN, de tal forma que a via K, tal como definida atualmente, apenas pelo sítio de projeção talâmico, é altamente heterogênea. Usando estímulos tritan (que modulam preferencialmente células sensíveis ao eixo cromático azul / amarelo), alguns estudos identificaram células com oponência azul *off* / amarelo *on* no LGN de *Macaca sp.* (VALBERG *et al.*, 1986a) e *Callithrix sp.* (SZMAJDA *et al.*, 2006), existindo evidências de que essas células correspondem, na retina, a uma classe de células ganglionares de campo grande (DACEY *et al.*, 2002, 2003). Foi também encontrada na retina de humanos e de *Macaca* uma classe de células ganglionares diretamente excitáveis pela luz por possuírem na sua membrana plasmática o fotopigmento melanopsina, uma proteína transmembrana com acoplamento à proteína G (PROVENCIO *et al.*, 2002; DACEY *et al.*, 2005). Morfologicamente, essas células exibem as maiores árvores dendríticas dentre as células ganglionares retinianas até então estudadas em primatas, com dendritos longos e esparsos e com uma cobertura dendrítica alta. São, em sua maioria, monoestratificadas e constituem duas subclasses, cada uma enviando processos dendríticos para as bordas limitantes (externa e interna) da camada plexiforme interna (DACEY *et al.*, 2005). Apesar disso, fisiologicamente, ambas as subclasses apresentam campo receptivo centro *on*, oponência azul *off* / amarelo *on* e resposta extremamente tônica (DACEY *et al.*, 2005).

O foco do presente trabalho ficou restrito às células M e P, uma vez que as células K, quando consideradas nas suas variedades, são menos frequentes na retina de

primatas e, portanto, mais difíceis de serem estudadas usando a metodologia de registro eletrofisiológico unitário *in vivo*.

1.3 PROPRIEDADES TEMPORAIS E ESPECTRAIS DAS CÉLULAS GANGLIONARES M E P DE CATARRÍNEOS

A partir de vários estudos conduzidos desde o final da década de 60, com o emprego de registros eletrofisiológicos de neurônios isolados, dentre outras técnicas, tem sido construída uma caracterização fisiológica das células ganglionares da retina de primatas. Esses estudos usaram inicialmente, e em sua grande parte até então, como modelo animal os primatas do gênero *Macaca*. Sendo um antropóide catarríneo, é esperado que a escolha desse gênero favoreça as comparações com o sistema visual humano, já que estudos neuroanatômicos anteriores mostraram uma alta similaridade entre os elementos do sistema visual desse grupo de primatas (incluindo o homem).

Se o estímulo visual for um pulso de luminância, as células M são classificadas como fásicas, com respostas transientes e alta sensibilidade ao contraste de luminância, enquanto as células P são classificadas como tônicas, dando respostas sustentadas e baixa sensibilidade ao contraste de luminância (HUBEL & WIESEL, 1960; GOURAS, 1968; de MONASTERIO & GOURAS, 1975; de MONASTERIO *et al.*, 1975a, b; de MONASTERIO, 1978a, b, c; KAPLAN & SHAPLEY, 1986; LEE *et al.*, 1988, 1989a, b, c, 1990, 1994; PURPURA *et al.*, 1988, 1990; KREMERS *et al.*, 1993; CRONER & KAPLAN, 1995).

Por outro lado, para pulsos de cor variando no tempo, as células M e P também apresentam uma dicotomia funcional: as células M são pouco sensíveis a esses estímulos, enquanto que as células P respondem vigorosa e tonicamente caso a composição espectral dos pulsos estiver localizada em um eixo cromático verde / vermelho (GOURAS, 1968; de MONASTERIO & GOURAS, 1975; de MONASTERIO *et al.*, 1975a, b; de MONASTERIO, 1978a, b, c; LEE *et al.*, 1988, 1989a, b, c, 1990, 1994).

As células ganglionares M e P de primatas também respondem de modo distinto quando estimuladas com oscilações temporais de luminância ou de cor. No primeiro caso, as células M são cerca de 8 a 10 vezes mais responsivas que as células P (KAPLAN & SHAPLEY, 1986; LEE *et al.*, 1989a). Além da maior responsividade, as células M apresentam uma Função de Transferência de Modulação Temporal (FTMT) de luminância passa banda, com um pico de responsividade entre 20-40 Hz (LEE *et al.*, 1989a, 1990), diminuindo sua responsividade nas frequências temporais baixas e altas. Por outro lado, as células P apresentam uma FTMT de luminância passa baixa (LEE *et al.*, 1989a, 1990), com

uma responsividade similar nas frequências temporais baixas e médias, decaindo nas altas. A FTMT de luminância de uma célula ganglionar M é similar em forma e responsividade à Função de Sensibilidade ao Contraste Temporal de Luminância obtida psicofisicamente em humanos (LEE *et al.*, 1989a, 1990).

As células P são mais responsivas para oscilações de cor verde / vermelho que as células M, apresentando uma FTMT de cor passa baixa e um pico de responsividade entre 20-30 Hz (LEE *et al.*, 1989a, 1990). Quando a responsividade acromática da célula M é comparada com a responsividade cromática da célula P, a diferença de responsividade entre as duas cai para cerca de 2 a 3 vezes, tornando-se menor do que a diferença observada para oscilações de luminância (LEE *et al.*, 1989a, 1990).

Para um sistema completamente linear, ou seja um sistema onde são válidos os princípios de aditividade e de sobreposição, a transformada inversa (ou síntese) de Fourier da FTMT pode prever como é a resposta impulso da célula no domínio do tempo (SILVEIRA, 1996; SILVEIRA & de MELLO Jr., 1998; SILVEIRA *et al.*, 2004b). Esse postulado é válido para as células P da retina de primatas tanto para modulações de cor quanto para as de luminância, exceto sob circunstâncias particulares onde aparecem não-linearidades importantes, como em contrastes altos (LEE *et al.*, 1990, 1994). As células M também são lineares em função do contraste de luminância do estímulo, mas em um intervalo bem mais restrito de valores de tempo e de contraste do estímulo, quando comparadas às células P (LEE *et al.*, 1994). A não-linearidade das células M é caracterizada pela presença de um mecanismo de controle de ganho de contraste, o qual consiste numa saturação na amplitude da resposta da célula acompanhada por um avanço na fase da resposta em função do contraste (BENARDETE *et al.*, 1992.; LEE *et al.*, 1994). Como esperado, as células P não apresentam o mecanismo de controle de ganho de contraste (BENARDETE *et al.*, 1992; LEE *et al.*, 1994).

Além da caracterização das propriedades temporais das células ganglionares usando os estímulos simples supracitados, como pulsos e oscilações, Barry B. Lee e colegas, usando registros unitários eletrofisiológicos *in vivo*, empregaram estímulos mais complexos para detalhar a “divisão de tarefas” entre as células ganglionares retinianas M e P nos domínios temporais e espectrais. Esses estímulos consistiram principalmente de dois protocolos: a fotometria com *flicker* heterocromático (*Heterochromatic Flicker Photometry*, HFP) (LEE *et al.*, 1988) e o protocolo de fase (SMITH *et al.*, 1992). Ambos foram adaptados para a eletrofisiologia unitária a partir de estudos anteriores de psicofísica visual (HFP: e.g. KAISER, 1988; Protocolo de fase: LINDSEY *et al.*, 1986). No primeiro protocolo, duas luzes

monocromáticas são osciladas em oposição de fase e a proporção entre seus contrastes é variada de modo pré-determinado. No segundo, duas luzes monocromáticas com o mesmo contraste são variadas em diferentes relações entre suas fases. Para maiores detalhes a respeito, ver Materiais e Métodos (2.5.5 Fotometria com *flicker* heterocromático, página 38; 2.5.6 Protocolo de fase, página 43). Com esses paradigmas de estimulação, foram estudadas as seguintes propriedades das células ganglionares: a especificidade dos sinais dos fotorreceptores cones e bastonetes para as células M e P, qual o efeito da frequência temporal na convergência desses sinais e de que modo eles convergem para os campos receptivos das células M e P (LEE *et al.*, 1988; SMITH *et al.*, 1992).

A partir do trabalho pioneiro do húngaro Stephen Wilhelm Kuffler (1913-1980), na retina de coelho, sabe-se que os campos receptivos das células ganglionares retinianas são circulares ou elípticos e que possuem um antagonismo entre suas regiões central e periférica (KÜFFLER, 1953). O antagonismo espacial centroperiférico do campo receptivo pode ser um antagonismo de luminância ou um antagonismo de cor ou espectral (LEE, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2004a).

No primeiro tipo de antagonismo, as células podem ser centro *on* / periferia *off*, ou o contrário, e não apresentam diferença de sensibilidade espectral entre o centro e a periferia. Neste caso, se a célula ganglionar for excitada pela presença de luz no centro do seu campo receptivo (centro *on*), essa mesma célula será inibida se a luz incidir sobre a periferia do seu campo receptivo (periferia *off*). Essa responsividade é característica das células ganglionares *Mon*, sendo que as células *Moff* possuem campo receptivo de características opostas às primeiras, ou seja, com um centro inibido pela luz e uma periferia excitada pela luz (LEE, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2004a).

No segundo tipo, os campos receptivos podem ter antagonismos centro-periferia que diferem entre si quanto à sensibilidade espectral, a qual, por sua vez, depende de qual(is) cone(s) converge(m) para o centro e para a periferia do campo receptivo. Essa configuração de campo receptivo é caracteristicamente encontrada nas células P, as quais são usualmente classificadas em *PM+L-*, *PM-L+*, *PL+M-*, *PL-M+* (LEE, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2004a), onde a primeira e a segunda letras significam a sensibilidade do fotorreceptor cone que converge, respectivamente, para o centro ou para periferia do campo receptivo da célula ganglionar. A letra M indica um sinal de entrada, para o campo receptivo, de um cone mais sensível para comprimentos de onda médios (*Middle wavelength*), enquanto que a L significa um sinal de entrada de um cone mais sensível para comprimentos de onda longos (*Long wavelength*). Os comprimentos de onda médios e longos são discriminadas por um ser

humano com visão de cores normal, como sendo cores esverdeadas e avermelhadas, respectivamente. O sinal de + ou de - após cada letra, significa, respectivamente, a excitabilidade ou a inibição do campo receptivo para uma luz com o comprimento de onda correspondente. Ou seja, uma célula $PM+L-$ possui campo receptivo cujo centro é excitado pela luz verde e uma periferia que é inibida pela luz vermelha. Observe-se que, do ponto de vista do antagonismo espacial de luminância, as variedades $PM+L-$ e $PL+M-$ são células *Pon*, enquanto as variedades $PM-L+$ e $PL-M+$ são células *Poff*.

O terceiro tipo de cone encontrado na retina de primatas é o cone S, mais sensível para comprimentos de onda curtos (*Short wavelength*) e que não envia sinais às células M ou P e sim para as células K (DACEY & LEE, 1994; LEE, 2004; MARTIN, 2004; SUN *et al.*, 2006). Os comprimentos de onda curto são discriminados por um ser humano com visão de cores normal como cores azuladas.

Ao estudarem as propriedades fisiológicas das células ganglionares usando modelos matemáticos de responsividade associados às funções de absorção espectral dos cones M e L, Lee e colaboradores mostraram que a resposta acromática das células M é resultado de uma convergência conjunta dos cones M e L tanto para o centro quanto para a periferia do campo receptivo, porém com sinais antagônicos. As células P, por outro lado, recebem também sinais dos cones M e L, porém com polaridades opostas entre si, o que permite a oponência de cor observada nos registros dessas células. Os resultados principais desses experimentos corroboram a hipótese de que as células M possuem uma alta sensibilidade acromática e as P uma alta sensibilidade cromática e que as primeiras seriam o substrato fisiológico do canal psicofísico de luminância e as segundas pelo canal psicofísico de cor verde / vermelho dos primatas (e.g. KREMERS *et al.*, 1992).

Em 1997, Lee e colaboradores modificaram o protocolo de fase citado anteriormente para estudar a convergência dos sinais provenientes dos bastonetes para as células ganglionares retinianas de *Macaca* (LEE *et al.*, 1997). Nesse estudo, eles encontraram mais uma diferença funcional entre as células M e P: o sinais de bastonetes que ativa as células M é mais forte do que o que ativa as células P. Esse sinal dos bastonetes para as células M é observável até em condições médias de iluminação retiniana, enquanto que as células P só mostram respostas com sinal de bastonetes sob baixa iluminação retiniana, chamada de condição escotópica (LEE *et al.*, 1997).

O substrato anatômico responsável por essas convergências específicas de bastonetes sobre células ganglionares através de circuitos neurais retinianos já foi parcialmente elucidado. A retina dos primatas, assim como a retina de outros mamíferos,

possui muitas vias paralelas que conduzem os sinais dos cones e bastonetes para as células ganglionares. Isto está refletido na existência de classes múltiplas de células bipolares de cones, incluindo aqueles que conectam os cones às células M e P (BOYCOTT & WÄSSLE, 1991). Por outro lado, os bastonetes são conectados à retina interna por meio de uma única classe de células bipolares de bastonetes. Células de uma classe específica de amácrinas, as células amácrinas AII, transferem os sinais dos bastonetes para as células bipolares de cones, na camada plexiforme interna, determinando que desse ponto em diante, os sinais dos bastonetes e cones compartilhem as mesmas vias (KOLB & FAMIGLIETTI, 1974; FAMIGLIETTI & KOLB, 1975).

Nesse aspecto, existe uma diferença crítica na transferência dos sinais de cones e bastonetes para os níveis superiores da via visual (RODIECK, 1998). Todos os fotorreceptores, cones e bastonetes, são hiperpolarizados pelo incremento de luz e despolarizados pelo decremento de luz. Como a probabilidade de liberação de glutamato nos terminais axonais dessas células é tanto maior quanto mais despolarizadas elas estão, os cones e bastonetes liberam mais glutamato quando a luz diminui e menos quando ela aumenta. Os cones fazem sinapses com duas classes de células bipolares, *off* e *on*. As classes *off* de células bipolares de cones conservam o sinal dos cones: elas são inibidas pelo incremento e excitadas pelo decremento luminoso, uma vez que possuem receptores de glutamato ionotrópicos, os quais aumentam a permeabilidade da membrana a cátions quando ativados por aquele neurotransmissor. As classes *on* de células bipolares de cones invertem o sinal dos cones: elas são excitadas pelo incremento e inibidas pelo decremento de luz, porque possuem receptores metabotrópicos de glutamato, os quais, quando ativados pelo neurotransmissor, disparam uma série de reações metabólicas na célula que levam ao aumento da permeabilidade da membrana plasmática ao potássio e a conseqüente hiperpolarização.

A partir desse ponto, a via dos cones é formada por neurônios glutamatérgicos que conservam o sinal das bipolares: as células bipolares, as células ganglionares da retina, as células retransmissoras das diversas camadas do núcleo geniculado lateral que se projetam para o córtex visual e os neurônios piramidais do córtex visual primário. Interneurônios excitatórios e inibitórios, que usam diversos tipos de neurotransmissão, situados em todas as estações sinápticas da via visual, completam o que sabemos sobre os elementos dos circuitos neurais visuais.

Por outro lado, todas as células bipolares de bastonetes são de uma única classe *on* e, portanto, invertem o sinal provindo dos bastonetes. Elas não fazem sinapses diretamente com as células ganglionares ou o fazem em número muito pequeno (GRÜNERT & MARTIN,

1991). Elas transferem os sinais provindos dos bastonetes para pelo menos duas classes de células amácrinas, AI e AII (KOLB & FAMIGLIETTI, 1974; FAMIGLIETTI & KOLB, 1975). As células amácrinas AI têm campos dendríticos grandes, usam GABA como neurotransmissor e fazem sinapses recíprocas nos terminais axonais das próprias células bipolares de bastonetes (WÄSSLE *et al.*, 1995). As células amácrinas AII têm campos dendríticos pequenos e estão interpostas entre as células bipolares de bastonetes e as células bipolares de cones que, curiosamente, são os próximos neurônios da via dos bastonetes. Elas fazem sinapses elétricas, através de junções comunicantes, com as células bipolares de cones *on* na lamela *b* da camada plexiforme interna, enquanto que na lamela *a* desta mesma camada elas fazem sinapses inibitórias glicinérgicas com as células bipolares de cones *off* (WÄSSLE *et al.*, 1991, 1995).

Dessa forma, a atividade dos bastonetes, cujo sinal havia sido invertido nas células bipolares de bastonetes, têm o seu sinal conservado nas sinapses entre as células bipolares de bastonetes e as células amácrinas AII, assim como entre estas e as células bipolares de cones *on*, e daí ao longo do restante da via (WÄSSLE *et al.*, 1991, 1995). Paralelamente, o sinal proveniente dos bastonetes é novamente invertido nas sinapses glicinérgicas entre as células amácrinas AII e as células bipolares de cones *off*, mantendo-se com o mesmo sinal a partir daí, no restante da via dos bastonetes (WÄSSLE *et al.*, 1991, 1995). Essa via dos bastonetes foi dissecada, inicialmente, em mamíferos não-primatas (KOLB & FAMIGLIETTI, 1974; FAMIGLIETTI & KOLB, 1975), porém estudos mais recentes mostraram que ela está organizada de forma semelhante nos primatas (GRÜNERT & MARTIN, 1991; WÄSSLE *et al.*, 1995; DACEY, 1999; SILVEIRA *et al.*, 2004a; LAMEIRÃO, 2003). Para os primatas e outros mamíferos existe uma rota alternativa para o sinal dos bastonetes. É através de junções comunicantes entre cones e bastonetes, de forma que o sinal dos bastonetes passaria para os cones e estes, por sua vez, transmitiriam esses sinais pelas suas próprias vias até as células ganglionares (SCHNEEWEIS & SCHNAPF, 1995; VERWEIJ *et al.*, 1999).

1.4 ECOLOGIA DO SISTEMA VISUAL DOS PRIMATAS NEOTROPICAIS

É de grande relevância investigar se as células M e P têm a mesma morfologia e fisiologia em primatas com hábitos comportamentais diferentes (diurno *versus* noturno, por exemplo) e diferentes formas de visão de cores (mono, di ou tricromata). Os primatas compreendem duas subordens: Anthrooidea e Prosimii (FLEAGLE, 1988). Os antropóides são divididos em duas infraordens, Catarrhini (catarríneos) e Platyrrhini (platirríneos),

habitantes dos continentes eurasiático e africano e do continente americano, respectivamente. Esses últimos também são conhecidos como primatas neotropicais. Os vinte e dois gêneros de antropóides do Velho Mundo são todos diurnos e sua visão de cores é tricromática, com pouca variação entre indivíduos e espécies (JACOBS, 1998; VOROBYEV, 2004). A partir de uma reclassificação sugerida recentemente, um gênero adicional pertenceria a esse grupo, o *Rungwecebus* (DAVENPORT *et al.*, 2006), mas ainda não há estudos sobre seu sistema visual. De qualquer modo, em humanos e demais catarríneos, a dicromacia e a tricromacia anômala são considerados fenótipos anormais. Assim, não é de se surpreender que a organização retiniana seja bastante semelhante em todos os catarríneos até agora estudados, com apenas pequenas diferenças entre as espécies.

Por outro lado, os antropóides do Novo Mundo diferem daqueles do Velho Mundo porque compreendem espécies diurnas e noturnas, as quais apresentam uma grande variedade de fenótipos de visão de cores (JACOBS, 1998; VOROBYEV, 2004) (Tabela 1). Eles representam modelos animais interessantes para testar hipóteses sobre a organização das vias visuais dos primatas. Entre os platirríneos, existem dezessete gêneros diurnos e um gênero noturno, o *Aotus*. Além disso, as populações de quase todas as espécies de platirríneos contém uma mistura de indivíduos dicromatas e tricromatas (MOLLON *et al.*, 1984; VOROBYEV, 2004) devido à presença de um único gene no cromossoma X que codifica os ftopigmentos sensíveis a comprimentos de onda médios e longos (encontrados nos cones M e L, respectivamente). Conseqüentemente, todos os machos são dicromatas e têm o cone S, cujo ftopigmento é codificado no cromossoma autossômico 7, e um cone M ou L, cujo ftopigmento é codificado no cromossoma X. Devido ao polimorfismo sexual do gene para os ftopigmentos M/L, existem três ou mais fenótipos entre os machos. As fêmeas monozigóticas são dicromatas, enquanto as fêmeas heterozigóticas são tricromatas, sendo as proporções exatas de dicromatas e tricromatas dependente do número e da freqüência de alelos do gene para ftopigmentos M/L na população. Finalmente, também devido ao polimorfismo sexual, existem várias formas de dicromacia e tricromacia entre as fêmeas (MOLLON *et al.*, 1984).

Tabela 1. Antropóides do Novo Mundo, segundo a revisão de Rylands *et al.* (2000).

Família	Número de	Estilo de vida	Visão de cores	Estudos sobre células ganglionares retinianas M e P
<i>Gênero</i>	espécies			
Callitrichidae				
<i>Cebuella</i>	1	Diurno	-	-
<i>Mico</i>	14	Diurno	-	-
<i>Callithrix</i>	6	Diurno	Polimórfica	4-8, 16-17,
<i>Saguinus</i>	15	Diurno	Polimórfica	-
<i>Leontopithecus</i>	4	Diurno	Polimórfica	-
<i>Callimico</i>	1	Diurno	-	-
Cebidae				
<i>Saimiri</i>	5	Diurno	Polimórfica	9
<i>Cebus</i>	7	Diurno	Polimórfica	1-3, 10, 12-13, 18-20, 25-28, 35-36
Aotidae				
<i>Aotus</i>	8	Noturno	Monocromática	1-3, 11-12, 14, 18-19, 21-22, 34-36
Pitheciidae				
<i>Callicebus</i>	19	Diurno	Polimórfica	-
<i>Pithecia</i>	5	Diurno	-	-
<i>Chiropotes</i>	2	Diurno	-	-
<i>Cacajao</i>	2	Diurno	-	-
Atelidae				
<i>Alouatta</i>	8	Diurno	Tricromática	15, 23, 29-33,
<i>Ateles</i>	6	Diurno	Polimórfica	24
<i>Lagothrix</i>	4	Diurno	-	-
<i>Oreonax</i>	1	Diurno	-	-
<i>Brachyteles</i>	2	Diurno	-	-

Visão de cores polimórfica refere-se a uma população normal composta de indivíduos dicromatas e tricromatas. Estudos morfológicos: ¹de LIMA (1993), ²⁻³de LIMA *et al.* (1993, 1996), ⁴GHOSH *et al.* (1996), ⁵GOMES (2001), ⁶GOMES *et al.* (2005), ⁷GOODCHILD *et al.* (1996), ⁸JUSUF *et al.* (2006), ⁹LEVENTHAL *et al.* (1989), ¹⁰⁻¹⁵SILVEIRA *et al.* (1989, 1993, 1994, 1998, 2001b, 2004c), ¹⁶SZMAJDA *et al.* (2005), ¹⁷WILDER *et al.* (1996), ¹⁸⁻²¹YAMADA *et al.* (1995, 1996a, b, 2001). Estudos eletrofisiológicos: ²²⁻²³da SILVA FILHO *et al.* (2000, 2003), ²⁴HUBEL & WIESEL (1960), ²⁵⁻²⁶LEE *et al.* (1996, 2000), ²⁷SAITO (2003), ²⁸⁻³³SAITO *et al.* (2001, 2004a, b, 2005a, b, c), ³⁴⁻³⁶SILVEIRA *et al.* (2000, 2001a, 2004a).

Até o presente, foram descobertas duas exceções a esse padrão platirríneo para a visão de cores (JACOBS, 1998; VOROBYEV, 2004). O diurno *Alouatta* possui uma tricromacia bastante semelhante àquela observada entre os catarríneos (JACOBS *et al.*, 1996a; REGAN *et al.*, 1998; SAITO *et al.*, 2004b; VOROBYEV, 2004). Estudando indivíduos anestesiados de *Alouatta caraya* e de *Alouatta seniculus*, Jacobs e colaboradores não encontraram diferenças de sensibilidade espectral a partir dos registros eletrorretinográficos obtidos em fêmeas e no indivíduo macho testado: todos apresentavam um padrão de sensibilidade espectral condizente com a presença dos cones M, com um pico de absorção espectral em 530 nm, e dos cones L, com um pico de absorção espectral em 562 nm (JACOBS *et al.*, 1996a). Esses valores são semelhantes àqueles encontrados em primatas catarríneos. A análise genética de amostras sanguíneas desses animais mostrou que o *Alouatta*, através de uma duplicação, tem dois genes diferentes no cromossomo X para a codificação de dois fotopigmentos diferentes, um M e outro L, havendo apenas um alelo para cada gene na população (JACOBS *et al.*, 1996a). Juntamente com esses dois genes, ele também tem um gene no cromossomo autossômico 7 para a codificação do fotopigmento S. Assim, todos os indivíduos da população de *Alouatta*, sejam machos ou fêmeas, são tricromatas (JACOBS *et al.*, 1996a). Apesar dos resultados eletrorretinográficos indicarem a expressão de ambos os fotopigmentos, M e L, um estudo detalhado da fisiologia das células ganglionares retinianas M e P do *Alouatta* pode trazer mais informações a respeito da presença de uma tricromacia completa nesse primata.

Outra exceção a esse padrão é o *Aotus*, um primata noturno e monocromata que tem um único gene que codifica um fotopigmento M/L, está localizado no cromossomo X e apresenta um único alelo na população. Além disso, o gene do cromossomo 7 que codifica o fotopigmento S não funciona e, assim, não existem cones S na retina (JACOBS *et al.*, 1993, 1996b).

Uma revisão da literatura sobre a distribuição de densidade de fotorreceptores em primatas, incluindo estudos comparativos recentes realizados em platirríneos (TROILO *et al.*, 1993; ANDRADE DA COSTA & HOKOÇ, 2000; FRANCO *et al.*, 2000; FRANCO, 2002), revelou a presença de três padrões básicos entre os primatas de como o mosaico fotorreceptor está organizado (SILVEIRA, 2003). Os primatas diurnos de olhos pequenos, como *Callithrix* e *Saguinus*, têm retinas com uma alta razão de densidade de cones para bastonetes, enquanto aqueles com olhos de tamanho médio a grande possuem retinas com uma razão intermediária, como é o caso do *Alouatta*, *Cebus*, *Macaca* e o próprio homem (SILVEIRA, 2003). Todos os primatas diurnos, independentemente das dimensões oculares,

têm uma fóvea bem desenvolvida, cujo tamanho é constante em espécies diferentes (FRANCO *et al.*, 2000). Finalmente, as retinas dos primatas noturnos, tais como *Aotus* e *Otolemur*, exibem uma razão muito baixa de cones para bastonetes e não possuem uma fóvea bem desenvolvida (JONES, 1965; WEBB & KAAS, 1976; DeBRUYN *et al.*, 1980; STONE & JOHNSTON, 1981; WIKLER & RAKIC, 1990; SILVEIRA *et al.*, 1993).

Assim, é interessante estudar-se como as células M e P de primatas com diferentes tipos de mosaico fotorreceptor processam os sinais dos cones e bastonetes. Entre os platirríneos, existem exemplos de todos esses três padrões de mosaico fotorreceptor mencionados e, assim, eles representam um excelente modelo animal para investigar esta questão. As células M e P de todos os outros antropóides até aqui estudados ajustam o tamanho dos seus campos dendríticos, ao longo do desenvolvimento do sistema nervoso, para manter aproximadamente a mesma convergência de cones (YAMADA *et al.*, 2001). Conseqüentemente, a convergência de bastonetes para as células M e P é muito diferente nos platirríneos, já que a razão de cones para bastonetes é tão diversa e, nesse trabalho, pretendeu-se encontrar diferenças fisiológicas significativas entre eles.

A maioria dos estudos fisiológicos mostram que as células M e P enviam os sinais dos cones e bastonetes até o LGN com pesos diferentes. Muito embora os estudos morfológicos feitos na retina de *Macaca* sugerem que ambas as classes de células recebam os sinais de bastonetes em intensidade significativa (GRÜNERT, 1997), os registros de células ganglionares na retina da mesma espécie mostrou que enquanto as células M recebem uma grande contribuição dos bastonetes, as células P recebem sinais fracos ou não os recebe, especialmente na região central da retina (PURPURA *et al.*, 1988, 1990; LEE *et al.*, 1997). Estudo psicofísicos (SUN *et al.*, 2001) e eletrorretinográficos (KILAVIK & KREMERS, 2006) em humanos também apontam nesta direção.

No presente trabalho foram usados três gêneros de platirríneos para fazer um estudo comparativo de alguns aspectos temporais e espectrais da função retiniana nas células ganglionares M e P: o diurno tricromata *Alouatta* (JACOBS *et al.*, 1996a); o diurno macaco-prego *Cebus*, cuja população é uma mistura de indivíduos dicromatas e tricromatas (JACOBS & NEITZ, 1987); e o noturno e monocromata macaco-da-noite, *Aotus* (WIKLER & RAKIC, 1990; JACOBS *et al.*, 1993, 1996b). Esses primatas neotropicais têm olhos e retinas de tamanhos semelhantes, facilitando a comparação direta de observações realizadas em diferentes localizações retinianas tanto em métrica linear quanto angular. Diversos aspectos da anatomia retiniana desses primatas têm sido investigados, incluindo distribuição de fotorreceptores (*Alouatta*: FRANCO *et al.*, 2000; FRANCO, 2002; *Cebus*: ANDRADE DA

COSTA & HOKOÇ, 2000; FRANCO *et al.*, 2000; FRANCO, 2002; *Aotus*: OGDEN, 1975; FRANCO *et al.*, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2001b; FRANCO, 2002;), morfologia das células horizontais da retina (*Cebus*: dos REIS *et al.*, 2002; *Aotus*: dos SANTOS, 2002; dos SANTOS *et al.*, 2005), morfologia das células bipolares (*Cebus*: SILVEIRA *et al.*, 1998, 2003; LAMEIRÃO, 2003; *Aotus*: SILVEIRA *et al.*, 2001b), distribuição das células ganglionares (*Alouatta*: SILVEIRA *et al.*, 2004c; *Cebus*: SILVEIRA *et al.*, 1989, 2001b; *Aotus*: SILVEIRA *et al.*, 1993, 2001b), morfologia das células ganglionares M e P (*Cebus*: SILVEIRA *et al.*, 1994; YAMADA, 1995; YAMADA *et al.*, 1996a, b; *Aotus*: SILVEIRA *et al.*, 1994; YAMADA, 1995; YAMADA *et al.*, 1996a, 2001), distribuição das células ganglionares M (*Cebus* e *Aotus*: de LIMA, 1993; de LIMA *et al.*, 1993, 1996) e morfologia das células ganglionares biestratificadas de campo pequeno (*Cebus*: YAMADA, 1995; SILVEIRA *et al.*, 1999). Além disso, numa série de trabalhos recentes, foram investigados diversos aspectos da eletrofisiologia das células M e P desses primatas, assim como das células biestratificadas de campo dendrítico pequeno do *Cebus*, estas últimas conhecidas eletrofisiologicamente como células azul – on / amarelo – off (*Cebus*: LEE *et al.*, 1996, 2000, SILVEIRA *et al.*, 1998; *Aotus*: SILVEIRA *et al.*, 2000).

Os resultados desses trabalhos, tanto anatômicos quanto eletrofisiológicos, podem ser sumariados da seguinte maneira. Existem poucos estudos anatômicos sobre o sistema visual do *Alouatta* quando comparado com esses outros platirríneos. Foi reportado que o *Alouatta* apresenta uma densidade maior de fotorreceptores na região central da retina do que os outros primatas platirríneos, com uma respectiva diminuição de diâmetro do fotorreceptor na região foveal (FRANCO *et al.*, 2000). Entretanto, esse aumento de densidade na retina central é compensado por uma baixa densidade nas regiões periféricas da retina, de modo que o número total de fotorreceptores do *Alouatta* é alometricamente condizente para um primata do seu tamanho. Similarmente a essa alta densidade dos fotorreceptores centrais, uma densidade elevada de células ganglionares foi encontrada na retina central do *Alouatta*, porém acompanhada por uma diminuição proporcional na densidade de células ganglionares nas regiões periféricas da retina (SILVEIRA *et al.*, 2004b).

A retina de *Cebus* é muito semelhante à de *Macaca* e, por conseguinte, à do homem, em quase todos os aspectos qualitativos e quantitativos até agora investigados, com a exceção do fato de que as células P de *Cebus* dicromatas não apresentam otonomia verde – vermelha (Lee *et al.*, 2000). A retina de *Aotus*, por outro lado, embora tenha quase todas as classes celulares encontradas nos antropóides diurnos, apresenta diferenças quantitativas importantes, seja em tamanho do campo dendrítico, seja em densidade celular, quando

comparado com aqueles primatas. Isto pode ser apreciado, por exemplo, comparando-se os resultados da análise quantitativa de diversos parâmetros morfológicos das células M e P de *Cebus* e *Aotus*, realizada em material preparado exatamente com uma mesma metodologia (YAMADA, 1995; YAMADA *et al.*, 1996b, 2001).

1.5 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo principal o de analisar qualitativa e quantitativamente as propriedades temporais e espectrais das células ganglionares retinianas M e P de *Alouatta caraya*, *Cebus apela* e *Aotus infulatus* através da técnica de registro eletrofisiológico unitário extracelular *in vivo*.

Os objetivos específicos foram:

- a) Caracterizar as respostas das células ganglionares M e P nesses primatas para pulsos de luminância e de cor;
- b) Avaliar, através do levantamento das Funções de Transferência de Modulação Temporal (FTMT), a sensibilidade temporal de luminância e de cor das células ganglionares M e P nesses primatas;
- c) Verificar se na retina do *Alouatta caraya* existem células ganglionares retinianas que podem ser classificadas fisiologicamente como células M e P, com propriedades temporais e espectrais semelhantes às encontradas na retina de catarríneos através dos protocolos de Fotometria com *flicker* heterocromático (HFP) e de fase;
- d) Estudar o efeito da frequência temporal na contribuição dos cones e bastonetes para as respostas das células ganglionares retinianas no *Cebus* e no *Aotus* através dos protocolos de Fotometria com *flicker* heterocromático (HFP) e de fase;
- e) Correlacionar os estilos de vida diferentes adotados por esses primatas com as propriedades temporais e espectrais de suas células ganglionares.

Partes do presente trabalho já foram apresentados, ou como painéis em simpósios científicos regionais (SAITO *et al.*, 2005a), nacionais (da SILVA FILHO *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2004a, 2005b; SILVEIRA *et al.*, 2001a) ou internacionais (da SILVA FILHO *et al.*, 2003; SAITO *et al.*, 2001, 2003, 2004b, 2005c; SILVEIRA *et al.*, 2000), assim como artigo completo em periódico indexado (SILVEIRA *et al.*, 2004a).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS

Nove animais adultos foram usados: três *Alouatta caraja* machos, pesos entre 6,5 kg a 7,5 kg; três *Cebus apella*, 2 machos e 1 fêmea (dicromata), pesos entre 3,0 kg a 3,5 kg; e três *Aotus infulatus*, 1 macho e 2 fêmeas, pesos entre 0,75 kg a 1,0 kg. Os animais foram provenientes do Centro Nacional de Primatas (CENP, Ananindeua, Pará) e antes do experimento foram trazidos e mantidos no Biotério da Universidade Federal do Pará.

Os procedimentos experimentais obedeceram às normas da ARVO (*Association for Research in Vision and Ophthalmology*, Associação para a Pesquisa em Visão e Oftalmologia) para experimentos com animais (ARVO, 2006) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

2.2 PREPARAÇÃO DO ANIMAL

O animal foi selecionado aleatoriamente e posto em privação alimentar por 6 horas e hídrica por 2 horas. Uma solução anestésica de 3:1 de cloridrato de cetamina (VETANARCOL, KÖNIG) e cloridrato de xilazina (ROMPUN, BAYER) foi aplicada, pela via intramuscular, na coxa direita (10 mg de cloridrato de cetamina e 3,3 mg de cloridrato de xilazina por quilograma de peso corporal). As seguintes regiões foram tricotomizadas: parte superior do crânio, parte ventral do pescoço, face medial dos braços esquerdo e direito e face medial das pernas esquerda e direita na altura da coxa.

Antes da cirurgia, foi confirmado o estado de anestesia profunda do animal observando a perda de sensibilidade nociceptiva, perda dos reflexos protetores (palpebral e deglutição), diminuição do reflexo pupilar, relaxamento do tônus muscular anal e uma respiração mais profunda e regular. Se necessário, foi administrado mais anestésico para que o animal entrasse nesse estado.

2.2.1 Sistema de manutenção das funções vitais

Cada experimento teve uma duração média de 2 a 3 dias. O animal ficou anestesiado e totalmente imobilizado durante todo o experimento. Então, foi empregado um sistema auxiliar para a manutenção e monitoração de suas funções vitais. A descrição de todo este sistema, bem como dos procedimentos cirúrgicos relacionados, segue abaixo.

O animal foi colocado em uma mesa cirúrgica de metal (MAX PLANCK INSTITUTE), eletricamente aterrada. Um microscópio cirúrgico OPMI-1 (CARL ZEISS), acoplado à mesa, com um aumento de até 2,5 vezes, foi usado nas operações mais delicadas. Inicialmente, duas a três gotas de sulfato de atropina (ATROPINA 1%, ALLERGAN) e de cloridrato de fenilefrina (FENILEFRINA 10%, ALLERGAN) foram instiladas em cada olho do animal, a fim de provocar midríase.

Uma incisão cirúrgica foi feita em um dos braços do animal, geralmente no antebraço direito, onde foi inserido um cateter venoso, composto por um tubo fino (0,96 mm de diâmetro externo) de polietileno (PORTEX). A incisão foi fechada, após a aplicação de uma pomada de fibrinolisina, desoxirribonuclease 666 e clorafenicol (FIBRASE, PARKE-DAVIS) no local. Além da infusão manual de medicamentos quando necessário, o cateter permitiu a infusão automática de solução de hidratação e de alimentação parenteral através de uma bomba de infusão (B. BRAUN). Essa solução teve a seguinte composição: 1 a 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ de sufentanil (SUFENTA, JANSSEN-CILAG) diluído em soro glicosado a 5% na proporção de 1:10; e 4,5 a 7 $\text{mg}/\text{kg}/\text{h}$ de trietiliodeto de galamina (FLAXEDIL, RHODIA FARMA). A velocidade da infusão foi de 12 ml/h.

O animal foi posicionado em decúbito ventral e sua cabeça presa por barras auriculares de um sistema de contenção craniana (MAX PLANCK INSTITUTE) inseridas nos condutos auditivos externos, montado em uma plataforma antivibratória em cima da mesa cirúrgica. Previamente foi passada na superfície de cada barra auricular uma camada fina de pomada de lidocaína (XYLOCAÍNA 5%, ASTRA).

Em seguida, para a ventilação e anestesia gasosa do animal, procedeu-se de duas formas distintas de acordo com a espécie do primata. Para o *Aotus*, que possui uma traquéia mais fina que os demais, foi feita uma traqueostomia para a colocação de uma cânula metálica. Para o *Cebus* e o *Alouatta*, os quais possuem uma traquéia mais calibrosa, foi colocada uma cânula plástica de traqueostomia com balão através da boca. Em ambos os casos, a cânula ficou ligada a um respirador artificial (UGO BASILE). Um barômetro (MAX PLANCK INSTITUTE), conectado na saída do respirador artificial, mensurou a pressão inspiratória, em mBar. Um tubo de menor diâmetro foi acoplado também à cânula para acompanhar o percentual de volume de CO_2 , na respiração do animal, medido por um capnógrafo (MAX PLANCK INSTITUTE). Uma pomada de fibrinolisina, desoxirribonuclease 666 e clorafenicol (FIBRASE, PARKE-DAVIS) foi administrada no local da traqueostomia.

O respirador artificial injetou no animal uma solução gasosa na seguinte proporção (gases fornecidos por WHITE MARTINS): 23,5% de O₂ por minuto; 1,5% de O₂ (95%) / CO₂ (5%) por minuto; e 75% de N₂O por minuto. Os valores de frequência respiratória e volume respiratório do respirador artificial foram regularmente ajustados para que a expiração do animal contivesse um volume máximo de CO₂ de aproximadamente 4%.

Para fixar o ângulo da cabeça do animal, duas barras de contenção foram usadas. Uma barra dental foi colocada na boca do primata, atrás dos dentes caninos. Uma barra em formato de “U” invertido com um parafuso fixador no meio, foi colocada sob a cabeça do animal e fixada em um pequeno corte frontal no couro cabeludo. O animal foi posto com os olhos na direção da linha do horizonte, correspondendo ao ângulo zero do aparelho estereotáxico, e as extremidades laterais das duas barras foram fixadas ao aparelho estereotáxico em locais específicos, imobilizando totalmente a cabeça do animal durante todo o experimento.

Uma manta térmica (MAX PLANCK INSTITUTE) manteve a temperatura corpórea do animal em aproximadamente 37,5 °C. A manta foi controlada por um termômetro com termostato (MAX PLANCK INSTITUTE) e a temperatura medida através de uma sonda retal no animal (MAX PLANCK INSTITUTE).

O eletrocardiograma (ECG) do animal foi monitorado através de um dos canais de um osciloscópio diferencial de duplo feixe R5031 (TEKTRONIX). A respectiva saída do osciloscópio foi conectada a uma das entradas de um amplificador de áudio SM-660 (MAXSOM), tornando possível o acompanhamento da frequência cardíaca através de um sistema de caixas de som (CSR).

O outro canal do osciloscópio foi usado para acompanhar o eletroencefalograma (EEG) do animal. Para tanto, uma incisão no couro cabeludo foi feita, expondo a parte superior e medial do crânio do animal; o periósteo foi removido com uma lâmina de bisturi e dois pequenos orifícios de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro e equidistantes em relação à linha medial do crânio foram feitos usando uma furadeira elétrica (DREMEL) com uma broca apropriada. Duas barras metálicas finas, os eletrodos do ECG, foram inseridos nestes orifícios e fixadas no crânio com acrílico autopolimerizante (CLÁSSICO).

A visualização frequente do ECG e do EEG, dentre outros parâmetros, permitiu monitorar as funções vitais do animal. Caso a frequência diminuísse para menos que 100 batidas por minuto (bpm) e/ou o ECG apresentasse uma atividade cortical anormal, a anestesia gasosa e intravenosa era diminuída. Idealmente, o nível de anestesia profunda que

não compromettesse a vida do animal deveria apresentar uma frequência cardíaca entre 100 bpm e 150 bpm e um ECG com uma predominância de ondas de baixa frequência. No decorrer do experimento, a cada 30 minutos, os valores da frequência cardíaca e da respiratória, o volume e a pressão inspiratória, o nível de CO₂ e a temperatura foram anotados, bem como o ECG visualmente vistoriado. Diariamente, doses de 2 mg de sulfato de atropina injetável (ARISTON) e de 1 mg de benzilpenicilina benzatina (BENZETACIL, WYETH) foram administradas por via intramuscular para diminuir a secreção traqueobrônquica e como antibiótico de amplo espectro, respectivamente.

2.2.2 Procedimentos cirúrgicos oculares

Após a escolha do olho a ser inicialmente usado, o outro foi mantido ocluído usando fita cirúrgica. Inicialmente, foi feita uma incisão na pálpebra superior e na inferior, e todo o tecido dessa região foi retirado, deixando o globo ocular exposto. Em seguida, a conjuntiva foi separada da esclera ao longo de todo o globo ocular, formando uma camada de tecido conjuntivo com cerca de 4 mm de largura. Um aro metálico foi colocado no globo ocular do animal, logo atrás do limbo. O tecido conjuntivo foi costurado ao aro, e esse firmemente preso ao aparelho estereotáxico através de uma haste metálica, assegurando a imobilidade do olho.

Em seguida, a esclera foi trespassada por um suporte para eletródio (0,15 cm de diâmetro), em cujo interior, um eletródio de registro (Subseção 2.3.3) podia ser deslocado livremente. Esse suporte podia ser rotacionado, em relação à esclera, através de um micromanipulador de dois eixos para permitir o acesso do eletródio a diferentes regiões parafoveais da retina. Na ocasião da troca de eletródio, o vazamento de humor vítreo foi diminuído pela oclusão do suporte.

Foi usada uma lente de contato não-gelatinosa e permeável aos gases respiratórios com poder de refração necessário para que o olho do animal focalizasse um anteparo retangular (1,10 cm × 85 cm) e localizado frontalmente à 114 cm de distância.

2.3 SISTEMA COMPUTADORIZADO PARA ESTIMULAÇÃO VISUAL E REGISTRO UNITÁRIO

2.3.1 Hardware

Foi usado um computador PDP-11 (DIGITAL) com uma placa AD11-K (DIGITAL) com dois módulos conversores, um conversor analógico-digital e um conversor dígito-analógico, ambos com 12 bits de resolução para efetuar, respectivamente, a aquisição

de dados e controlar o estimulador. Um terminal VT220 (DIGITAL) foi a interface do usuário com o computador.

2.3.2 Estimulador visual

Um sistema óptico Maxwelliano (WESTHEIMER, 1966) produziu um feixe de luz circular (3 mm de diâmetro), proveniente da convergência de dois LEDs (*Light Emitting Diode*, Diodo Emissor de Luz) em um mesmo eixo óptico. Na parte posterior do estimulador foi adicionado um apontador laser, de modo que o laser proveniente do apontador ficasse no mesmo eixo óptico, porém em sentido contrário ao feixe de estimulação. Vários modelos de filtros e diafragmas podiam ser colocados entre a fonte do estímulo e o olho do animal mudando ou a intensidade luminosa e/ou as dimensões do estímulo original. Esse estimulador visual, montado em um tripé, podia ser posicionado livremente ao redor da pupila do animal, mas devido a limitações mecânicas do micromanipulador do eletródio, somente puderam ser registradas células localizadas na parafóvea, a cerca de 3 a 10 graus de distância da fóvea.

Os LEDs usados tinham uma alta pureza colorimétrica (acima de 90%) e picos de emissão espectral diferentes. Um dos LEDs, emitia uma luz de comprimento de onda médio (554 nm) e o outro emitia uma luz de comprimento de onda longo (638 nm). Esses comprimentos de onda são percebidos, respectivamente, como uma cor esverdeada e avermelhada, por uma pessoa com visão de cores normal. Portanto, nesse trabalho, esses LED serão chamados de LED verde e vermelho. Os *softwares* empregados nesse estudo permitiram controlar com alta precisão a amplitude e a fase de cada um dos dois LEDs isoladamente. Esses valores eram enviados para a placa de conversão dígito-analógica, onde eram convertidos em valores analógicos equivalentes e conduzidos para os respectivos LEDs.

2.3.3 Softwares

Dois *softwares* escritos na linguagem de programação FORTRAN foram usados neste estudo. Ambos foram escritos pelo Professor Dr. Barry Buchanan Lee, do Instituto Max Planck para Biofísica Química, Göttingen, Alemanha, e usados no registro eletrofisiológico de células ganglionares da retina de primatas neotropicais em estudos anteriores (LEE *et al.*, 1996; SILVEIRA *et al.*, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2004; SAITO *et al.*, 2001, 2003, 2004, 2005; da SILVA FILHO, 2003). O primeiro *software*, denominado FLASHA, consistiu de um gerador de pulsos de duração configurável, podendo ser uma duração breve (aproximando-se de uma função impulso) ou uma duração mais longa (função degrau). O contraste de Weber do estímulo foi programável, permitindo a geração de

estímulos cromáticos e acromáticos. O segundo, FASTER, foi usado como um gerador de funções periódicas temporais. Esse *software* modulou a intensidade luminosa dos LEDs obedecendo uma função periódica que podia ser senoidal, quadrada ou dente-de-serra, bem como controlou, dentre outras variáveis, o contraste de cada LED, a frequência temporal, e a fase inicial de cada LED em relação ao início de um ciclo de estimulação. Esses *softwares* também automatizaram a aquisição da resposta celular sob a forma de um PSTH (*PeriStimulus Time Histogram*). Dentre os vários parâmetros para a aquisição de dados e para a geração do histograma, os mais importantes foram: a duração de cada varredura, o número de varreduras em cada teste, o tamanho da classe (*bin*) do histograma e o número de classes por histograma. Esses parâmetros para as frequências temporais empregadas no presente trabalho estão apresentadas na Tabela 1 (para o FLASHA) e na Tabela 2 (para o FASTER).

Tabela 2. Parâmetros de configuração do *software* FLASHA para estimulação e aquisição de registro eletrofisiológico unitário.

Duração do pulso (ms)	Duração da varredura (ms)	Número de varreduras	Tamanho da classe (ms)	Número de classes	Tempo total de registro (s)
400	800	20	4	200	16

Tabela 3. Parâmetros de configuração do *software* FASTER para estimulação e aquisição de registro eletrofisiológico unitário. Cerca de 6 s de registro foram colhidos para cada frequência temporal.

Frequência temporal (Hz)	Duração da varredura (s)	Número de varreduras	Tamanho da classe (ms)	Número de classes	Tempo total de registro (s)
0,61	3,28	2	25,6	128	6,56
1,22	1,63	4	12,8	128	6,56
2,44	0,82	8	6,4	128	6,56
4,88	0,41	16	3,2	128	6,56
9,76	0,20	32	1,6	128	6,56
19,53	0,10	64	0,8	128	6,55
30,3	0,66	96	0,6	110	6,34
39,06 [†]	0,10	64	0,8	128	6,55
48,07 [†]	0,08	80	0,8	104	6,66
57,47 [†]	0,07	96	0,6	116	6,68
66,66 [†]	0,06	112	0,6	100	6,72
78,12 [†]	0,05	128	0,4	128	6,55

[†] - Nessas frequências temporais, os registros foram feitos com 4 ciclos de estimulação.

Os parâmetros foram definidos de acordo com as frequências temporais usadas e independentes do contraste do estímulo. Cada um dos *softwares* controlou a placa de estimulação e a placa de aquisição de dados para sincronizar a geração do estímulo com a aquisição de dados, obedecendo a configuração programada. Para cada condição de teste do FLASHA, foi obtido um histograma correspondente à resposta provocada por um único pulso, enquanto que para o FASTER, os histogramas resultantes correspondem a cerca de 6 segundos de resposta para dois ou quatro ciclos de estimulação.

2.4 REGISTRO UNITÁRIO EXTRACELULAR DE CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS

2.4.1 **Eletródio para registro unitário extracelular**

A aquisição do sinal bioelétrico foi feita com eletródios de metal isolado em vidro (MAX-PLANCK INSTITUTE), os quais consistiram de filamentos de tungstênio de 0,01 cm de diâmetro montado em tubos capilares de vidro de 0,075 cm de diâmetro externo e 0,04 cm de diâmetro interno. Esse tipo de eletródio possui uma alta impedância na sua ponta, $> 1 \text{ M}\Omega$, e um baixo nível de ruído elétrico, sendo freqüentemente usado para registros extracelulares.

2.4.2 **Amplificação e discriminação do sinal bioelétrico**

O sinal colhido pelo eletródio foi amplificado 1000 vezes em um pré-amplificador diferencial (MAX PLANCK INSTITUTE) e 500 vezes em um amplificador diferencial TM 503 (TEKTRONIX). O sinal passou por um discriminador de amplitude (MAX PLANCK INSTITUTE), onde foi acrescentada uma janela de discriminação e, ambos, o sinal e a janela, foram visualizados em um osciloscópio diferencial de duplo feixe 5113 (TEKTRONIX). O uso do discriminador de amplitude permitiu isolar os potenciais de ação do ruído elétrico. Tanto o osciloscópio quanto o discriminador de amplitude ficaram conectados em um sistema de áudio, possibilitando a escuta de ambos através de caixas de som (CSR).

2.4.3 **Aquisição do registro unitário**

O eletródio foi visualizado em um microscópio para verificar a integridade da sua ponta. Caso a ponta do eletródio aparentasse estar íntegra, o mesmo era colocado em seu suporte e, com a ajuda de um micromanipulador (MAX PLANCK INSTITUTE), descido em direção à superfície retiniana.

Numa primeira etapa, o sistema de áudio ficou “chaveado” para a escuta da amplificação do sinal captado pelo eletródio. Através de um oftalmoscópio 11475 (WELCH ALLYN), foi verificado se a ponta do eletródio estava próxima ou não da retina. Caso estivesse próximo, o eletródio era descido até tocar a camada de células ganglionares, momento em que ocasionava um ruído abrupto e característico no sistema de áudio. A coordenada do micromanipulador era anotada e adotada como a profundidade para tocar a superfície da retina naquela orientação; quando o eletródio era trocado, a coordenada anotada servia como uma estimativa da proximidade do eletródio em relação à retina; quando o suporte do eletródio era rotacionado, era encontrada uma nova coordenada.

Numa segunda etapa, a janela de discriminação foi deslocada verticalmente em relação ao sinal bioelétrico e colocada logo acima do ruído capturado pelo eletródio, sendo o áudio “chaveado” para o discriminador de amplitude. Usando o micromanipulador para obter movimentos finos de descida e de subida do eletródio, tentou-se isolar os potenciais de ação espontâneos de alguma célula ganglionar localizada nas proximidades da ponta do eletródio. Essa etapa foi acompanhada com o áudio, pois a atividade espontânea gera um padrão sonoro distinto daquele gerado pelo ruído de fundo multiunitário ou pelo ruído branco sem atividade celular. Uma vez isolada a célula, foram visualizados os potenciais de ação no osciloscópio e a janela de discriminação ajustada para otimizar o isolamento dos potenciais de ação do ruído bioelétrico intrínseco, de modo que cada potencial de ação que fosse maior em amplitude que a janela de discriminação fazia o discriminador de amplitude disparar um pulso TTL (*Transistor-Transistor Logic*, Lógica Transistor-Transistor) para a placa de conversão analógica-digital, a qual digitalizava esse evento para ser armazenado no PDP-11.

Um foco luminoso (MAX PLANCK INSTITUTE) foi usado para identificar a posição do campo receptivo da célula ganglionar no anteparo situado à frente do animal. A mudança sonora na frequência de disparos de potenciais de ação foi usada para localizar o campo receptivo da célula. Os limites espaciais do campo receptivo foram então delimitados em uma folha de papel previamente fixada no anteparo. Na maioria das células, usando o foco luminoso em diferentes configurações de luminância ou de cor, foi possível classificar antecipadamente o tipo celular como sendo fásico ou tônico a partir da taxa de disparos de potenciais de ação. O estimulador foi posicionado para que o estímulo incidisse na célula ganglionar isolada. Para tanto, procurou-se sobrepor o laser com o centro do campo receptivo, delimitado como descrito acima. Então foi feita a estimulação da célula para cada paradigma (ver abaixo). Ao término da bateria de paradigmas, procurava-se uma outra célula.

Foi verificado regularmente se o olho continuava adequado para o registro extracelular. Quando os vasos retinianos de menor calibre começavam a desaparecer na observação oftalmoscópica, o que ocorria por volta do terceiro dia, o outro olho era usado. Ao término do experimento, o animal era sacrificado com uma dose mortal intravenosa de barbitúrico, 150 mg/kg de peso corporal (TIONEMBUTAL, ABBOTT).

2.5 ESTIMULAÇÃO VISUAL E ANÁLISE DOS REGISTROS UNITÁRIOS

Os LEDs verde e vermelho foram pareados quanto às suas iluminâncias relativas através de um procedimento psicofísico de fotometria com *flicker* heterocromático, feita por um sujeito cuja função de luminosidade fotópica, V_λ , se aproximava daquela de um observador padrão para um campo de 2° (JUDD, 1951). Nessa condição de equiiluminância, um estímulo composto por ambas as luzes tinha uma cromaticidade média de aproximadamente 595 nm e uma iluminância retiniana (WESTHEIMER, 1966) de 2000 Td em seres humanos. Como o globo ocular dos primatas usados nesse estudo é menor que o de um humano adulto foi calculado que a iluminância retiniana do estímulo era aproximadamente duas vezes maior no *Cebus* (SILVEIRA *et al.*, 1989; LEE *et al.*, 2000). Esse parâmetro não foi calculado para o *Alouatta* ou o *Aotus*. Por conveniência, nesse estudo, será adotado o valor da iluminação retiniana do estímulo para humanos. O tamanho do estímulo não foi alterado durante os experimentos.

2.5.1 Transferência dos arquivos do PDP-11

Para cada célula registrada, cada um dos protocolos de estimulação aplicados originou um arquivo binário contendo todos os histogramas obtidos nas várias condições de teste. Esses arquivos, armazenados no PDP-11, foram convertidos em arquivos no formato ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*, Código Padrão Norte-Americano para Intercâmbio de Informações). Conectou-se então o terminal VT220, do PDP-11, a um microcomputador IBM-PC compatível através de um cabo paralelo bi-direcional. O microcomputador emulou o terminal VT220 usando o *software* Telix (DELTACOMM) e comandou o PDP-11 para transferir os arquivos ASCII através do cabo paralelo. A transferência foi feita sob a forma de um único arquivo ASCII formado pela união de todos os arquivos ASCII componentes. Ao término da transferência, esse arquivo composto foi processado por um *software* para recuperar os arquivos componentes. No caso dos registros obtidos com o FASTER, cada histograma foi recalculado *off-line* para representar a resposta em dois ciclos de estimulação quando necessário (Tabela 2). Então, os valores de amplitude e

de fase do primeiro harmônico dos histogramas foram extraídos através de um *software* que aplicou um algoritmo de DFT (*Discrete Fourier Transform*) ou de FFT (*Fast Fourier Transform*, Transformada Rápida de Fourier) (COOLEY & TUKEY, 1965). Todos os *softwares* envolvidos nessa etapa foram localmente desenvolvidos em C++ com o compilador Borland C++ v 4,0 (BORLAND).

Os modelos matemáticos empregados para interpolar as respostas das células ganglionares foram ajustados usando o procedimento de otimização Microsoft Excel Solver (MICROSOFT CORPORATION). As rotinas foram programadas em Microsoft Visual Basic v 6.3 na planilha de cálculo Microsoft Excel 2002 (MICROSOFT CORPORATION).

2.5.2 Pulso de luminância e de cor

O pulso de luminância consistiu na modulação dos LEDs em fase, por pulsos retangulares de 400 ms de duração em diferentes contrastes de luminância (Figura 1). Os contrastes empregados foram definidos a partir da equação do contraste de Weber (C_W):

$$C_W = \left(\frac{L - L_{\text{ref}}}{L_{\text{ref}}} \right) \cdot 100, \quad (1)$$

onde L é a luminância do pulso em uma dada condição e L_{ref} é a luminância do estímulo na ausência dos pulsos. No início, os pulsos foram incrementais com quatro contrastes de luminância, positivos, de Weber: 12,5%, 25%, 50% e 100% (Figura 1A-D). Em seguida o estímulo consistiu de quatro pulsos de decremento de luminância com -12,5%, -25%, -50% e -100% de contraste de Weber (Figura 1E-H).

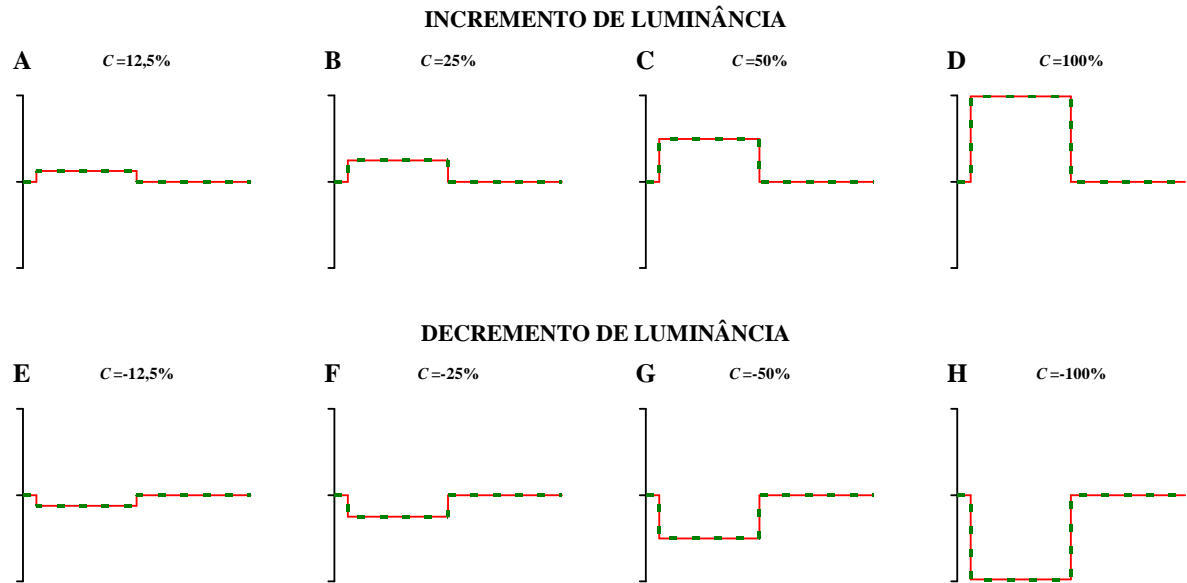


Figura 1. Estimulação por pulsos de luminância. O eixo das ordenadas é a luminância dos LEDs, em valores relativos entre -100% e 100%, e o das abscissas é tempo em milissegundos. A linha verde tracejada e a vermelha cheia representam, respectivamente, a variação temporal de luminância do LED verde e do vermelho em cada condição. O contraste de Weber (C) do estímulo, em percentagem, está discriminado no topo de cada gráfico. Duração do pulso: 400 ms.

Por outro lado, o pulso de cor, ou cromático, consistiu na modulação em fase dos LEDs verde e vermelho por pulsos retangulares mas com polaridades opostas entre si quanto à variação de luminância (Figura 2). Os contrastes empregados foram definidos a partir da Equação 1 mas, diferentemente do protocolo anterior, a luminância do estímulo não sofreu nenhuma variação. No início, os pulsos cromáticos apresentaram contrastes crescentes em direção ao vermelho, com incrementos do LED vermelho acompanhados por decrementos simétricos do LED verde (Figura 1A-D); em seguida, os pulsos cromáticos apresentaram contrastes crescentes em direção ao verde, com incrementos do LED verde acompanhados por decrementos simétricos do LED vermelho (Figura 1E-F). Então, na situação em que o LED verde aumentava o seu contraste de luminância de Weber em 25%, o LED vermelho diminuía o seu contraste de luminância de Weber em 25% de modo concomitante (Figura 2F). Os pulsos duraram 400 ms cada. Em ambas as direções de cor, quatro contrastes cromáticos de Weber foram empregados: 12,5%, 25%, 50% e 100%.

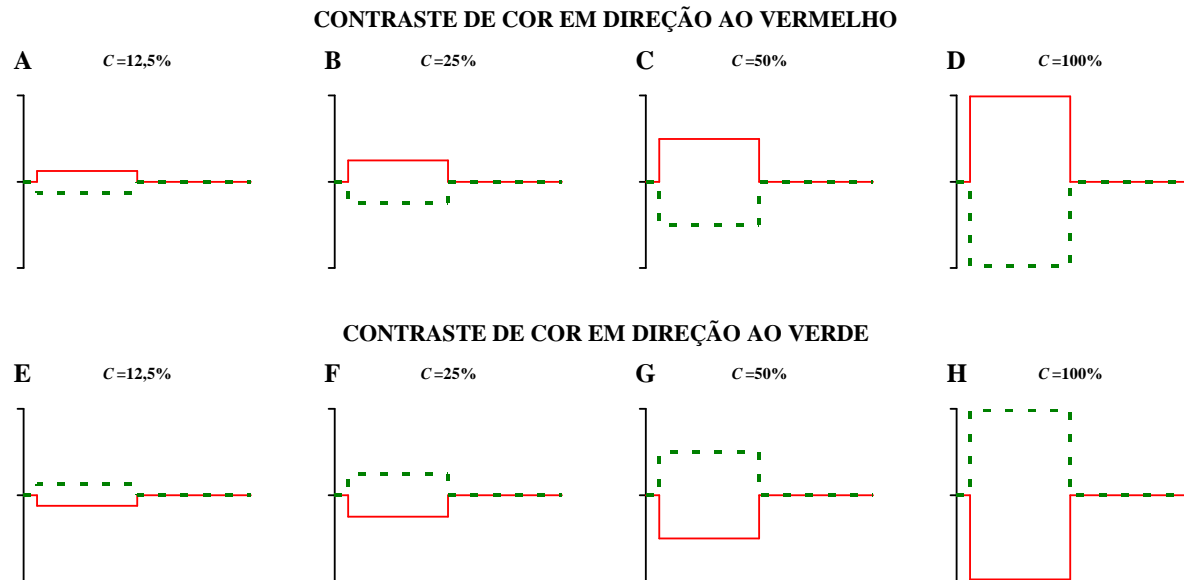


Figura 2. Estimulação por pulsos de cor. O eixo das ordenadas é a luminância dos LEDs, em valores relativos entre -100% e 100%, e o das abscissas é tempo em milissegundos. A linha verde tracejada e a vermelha cheia representam, respectivamente, a variação temporal de luminância do LED verde e vermelho em cada condição. O contraste de Weber (C) do estímulo, em percentagem, está discriminado no topo de cada gráfico. Duração do pulso: 400 ms.

Quando possível, a célula ganglionar foi classificada como fásica ou tônica a partir de sua resposta para os pulsos de luminância e de cor. Como regra geral, foi adotado que as células ganglionares classificadas fisiologicamente como fásicas apresentam uma alta porém transiente responsividade em todos os contrastes de luminância, e uma baixa ou nenhuma responsividade aos contrastes de cor. Por outro lado, as células ganglionares tônicas são menos responsivas aos contrastes de luminância porém apresentam uma resposta mais sustentada que a célula fásica; além disso, essas células possuem uma responsividade tônica e vigorosa aos estímulos cromáticos em antropóides tricromatas.

2.5.3 Função de Transferência de Modulação Temporal (FTMT) de luminância ou de cor

O protocolo para encontrar a FTMT de luminância consistiu na variação temporal da intensidade luminosa dos LEDs verde e vermelho em fase modulada por uma função senoidal. Em cada uma das 12 frequências temporais empregadas nesse protocolo (0,61; 1,22; 2,44; 4,88; 9,76; 19,53; 30,3; 39,06; 48,07; 57,47; 66,66; 78,12 Hz), foram testados 11 contrastes de Michelson diferentes, dispostos espaçadamente em uma escala logarítmica (3,13; 4,42; 6,25; 8,84; 12,5; 17,68; 25; 35,36; 50; 70,71; 100%). O contraste de Michelson, C_M , é definido como:

$$C_M = \left(\frac{L_{\max} - L_{\min}}{L_{\max} + L_{\min}} \right) \cdot 100, \quad (2)$$

onde L_{\max} é a luminância máxima e L_{\min} , a luminância mínima do estímulo. A Figura 3 mostra a variação de contraste de Michelson para uma dada frequência temporal.

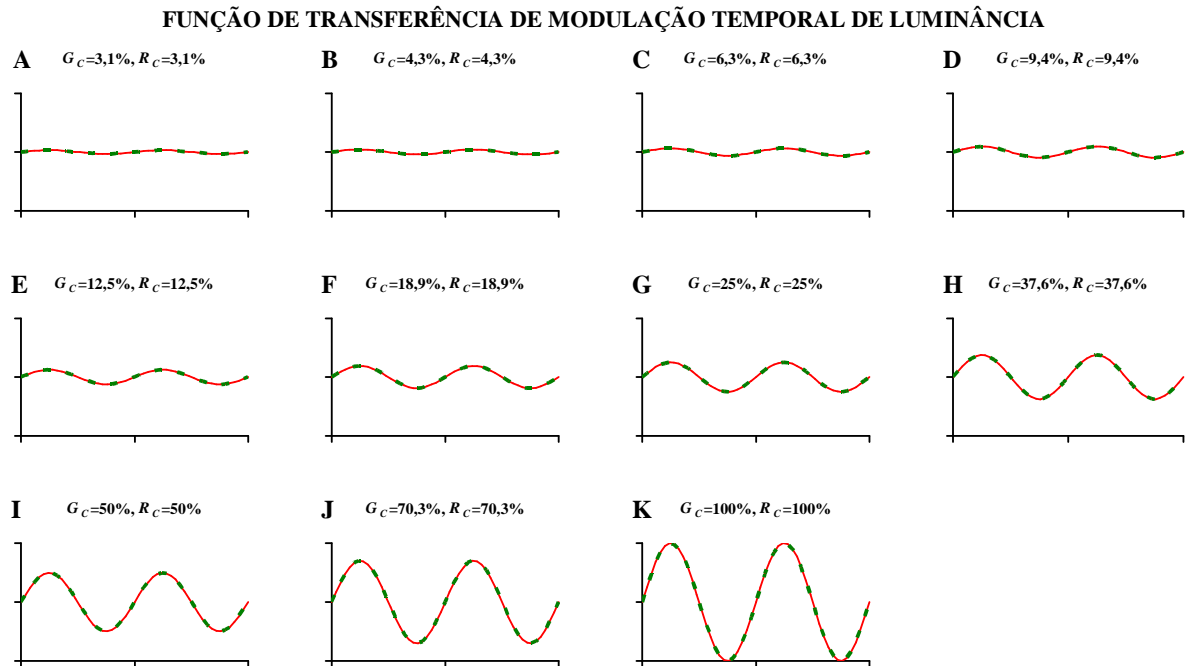


Figura 3. Estimulação por oscilações de luminância. O eixo das ordenadas é a luminância dos LEDs em escala relativa e o eixo das abscissas é tempo, em milissegundos, cujo valor absoluto depende da frequência temporal empregada. A linha verde tracejada e a linha vermelha cheia representam, respectivamente, a variação temporal de luminância da luz verde e da luz vermelha em cada condição. G_c = Contraste de Michelson do LED verde; R_c = Contraste de Michelson do LED vermelho.

Por outro lado, o protocolo para encontrar a FTMT cromática consistiu na variação temporal de intensidade luminosa dos LEDs modulada por uma função senoidal, porém com a modulação do LED verde em oposição de fase à do LED vermelho. De modo semelhante à FTMT de luminância, foram testadas 12 frequências temporais (0,61; 1,22; 2,44; 4,88; 9,76; 19,53; 30,3; 39,06; 48,07; 57,47; 66,66; 78,12 Hz) e em cada uma dessas frequências temporais foram testadas 11 contrastes de Michelson diferentes (3,13; 4,42; 6,25; 8,84; 12,5; 17,68; 25; 35,36; 50; 70,71; 100%) (Figura 4). Nesse caso, como os LEDs verde e vermelho foram modulados com a mesma luminância, porém em oposição de fase, o contraste de Michelson foi quantificado pela Equação 2 para um dado LED e significa o contraste temporal de cor em relação à cromaticidade média do estímulo.

FUNÇÃO DE TRANSFERÊNCIA DE MODULAÇÃO TEMPORAL DE COR

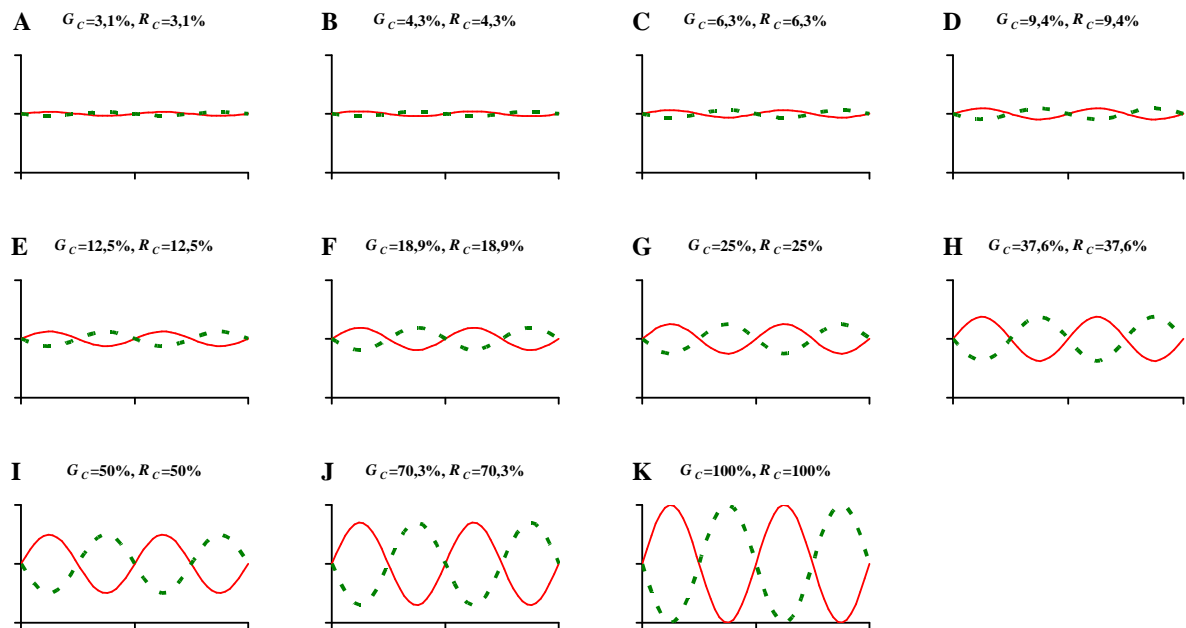


Figura 4. Estimulação por oscilações de cor. O eixo das ordenadas é a luminância dos LEDs em escala relativa e o eixo das abscissas é tempo, em milissegundos, cujo valor absoluto depende da frequência temporal empregada. A linha verde tracejada e a linha vermelha cheia representam, respectivamente, a variação temporal de luminância da luz verde e da luz vermelha em cada condição. G_C = Contraste de Michelson do LED verde; R_C = Contraste de Michelson do LED vermelho.

A partir da amplitude da resposta em função do contraste de Michelson de luminância ou de cor foi medida a sensibilidade temporal da célula para cada uma das 12 frequências temporais testadas. No presente trabalho, a sensibilidade da célula foi expressa em valores de ganho de contraste (BENARDETE *et al.*, 1982). Essa abordagem foi originalmente usada para estudar respostas eletrofisiológicas na retina de peixe (NAKA & RUSTHON, 1966). Para tanto, a equação de Michaelis-Menten foi ajustada aos valores da resposta, sendo sua forma algébrica:

$$r(c) - 2 = \frac{R_{\max} \cdot c}{(c + c_{50})}, \quad (3)$$

onde r é a resposta, em impulsos por segundo (imp/s) e diminuída da atividade espontânea predita para a célula (2 imp/s), no contraste c (em %), R_{\max} é a resposta máxima (em imp/s) na frequência estudada e c_{50} é o contraste (em %) necessário para provocar a metade da resposta máxima. Foram obtidos os parâmetros livres R_{\max} e c_{50} que melhor ajustaram a equação acima aos valores obtidos para a resposta celular registrada em cada uma das 12 frequências temporais testadas. Com esses valores, efetuou-se:

$$G(f) = \frac{R_{\max}}{c_{50}}, \quad (4)$$

onde G é o ganho de contraste da célula (imp/s·%). O ganho de contraste da célula em função das 12 frequências temporais testadas, f , corresponde a FTMT de luminância ou de cor de acordo com o estímulo empregado. Nesse trabalho, não foi estudada a Função de Transferência Óptica Temporal das células ganglionares e, portanto, não é apresentada a Função de Transferência de Fase Temporal.

2.5.4 Função de sensibilidade espectral dos fotorreceptores

A análise das respostas para os protocolos de fotometria com *flicker* heterocromático e de fase usou modelos matemáticos que levam em consideração a sensibilidade espectral dos fotorreceptores a qual, por sua vez, foi encontrada para cada fotorreceptor a partir da equação proposta por Trevor D. Lamb (LAMB, 1995).

A função de sensibilidade espectral normalizada de um fotorreceptor foi encontrada a partir de:

$$R(\lambda) = \frac{100}{\left[e^{a \cdot \left(A - \frac{\lambda_{\max}}{\lambda} \right)} + e^{b \cdot \left(B - \frac{\lambda_{\max}}{\lambda} \right)} + e^{c \cdot \left(C - \frac{\lambda_{\max}}{\lambda} \right)} + D \right]} \cdot \frac{\lambda}{\lambda_{\max}}, \quad \lambda = 390, \dots, 700, \quad (5)$$

onde $R(\lambda)$ é a sensibilidade espectral do fotorreceptor, λ é o comprimento de onda (nm), λ_{\max} é o pico de sensibilidade espectral do fotorreceptor (nm). Foram adotados os seguintes valores para os parâmetros livres da equação: $a = 70$; $A = 0,88$; $b = 28,5$; $B = 0,924$; $c = -14,1$; $C = 1,104$ e $D = 0,665$ (Lamb, 1995).

Como as células registradas eram localizadas na região parafoveal, não houve a necessidade de corrigir essas funções para a absorção do estímulo pelo pigmento macular, cuja presença muda a sensibilidade espectral dos fotorreceptores na fóvea (BONE *et al.*, 1992). Porém, os fotorreceptores parafoveais são mais curtos, com tamanho médio do segmento externo 22 μm em média e, por conseguinte, possuem uma menor densidade óptica do que os fotorreceptores foveais, os quais têm tamanho médio do segmento externo de 35 μm . Devido à diminuição da concentração do fotopigmento, é esperado um estreitamento da banda de sensibilidade dos fotorreceptores parafoveais no domínio dos comprimentos de onda. Esse efeito é chamado de *self-screening* (BURNS & ELSNER, 1985), o qual pode ser compensado usando a seguinte equação:

$$S(\lambda) = \left[\frac{1 - 10^{-D_{opt} \left(\frac{R(\lambda)}{100} \right)}}{1 - 10^{-D_{opt}}} \right] \cdot 100, \quad \lambda = 390, \dots, 700, \quad (6)$$

onde $S(\lambda)$ é a função de sensibilidade espectral do fotorreceptor corrigida para o *self-screening*, D_{opt} é a densidade óptica do fotopigmento e $R(\lambda)$ é a função de sensibilidade espectral do fotorreceptor obtida a partir da Fórmula 5. No presente trabalho, foi adotada uma densidade óptica média para os fotorreceptores de 0,27 a partir da excentricidade média de 6,5° das células ganglionares retinianas parafoveais registradas (ELSNER *et al.*, 1993).

A Figura 5 mostra as funções de sensibilidade espectral para os fotorreceptores de *Alouatta caraja*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus* corrigidas para *self-screening*. Os valores dos picos de absorção espectral de cada classe de fotorreceptor desses antropóides foram obtidos a partir de dados disponíveis na literatura (Tabela 3). O bastonete é comum a todos esses primatas e possui um λ_{max} de aproximadamente 500 nm. O cone S, ausente no *Aotus*, possui um λ_{max} de aproximadamente 440 nm (Figuras 5A e 5C). Um estudo eletrorretinográfico no *Alouatta caraya* encontrou dois tipos de cones sensíveis a intervalo de comprimentos de onda médios e longos (Figura 5A) (JACOBS *et al.*, 1996a). A Figura 5B mostra, para o *Cebus apella*, os três tipos de cones sensíveis aos comprimentos de onda médios e longos (M, M/L e L), que um primata desse gênero pode ter (MOLLON *et al.*, 1984; JACOBS & NEITZ, 1987; LEE *et al.*, 2000). O *Aotus* possui um único tipo de cone, responsivo à região de comprimentos de onda médios e longos do espectro visível, cujo pico de absorção espectral é de aproximadamente 543 nm (JACOBS *et al.*, 1993; JACOBS *et al.*, 1996b) (Figura 5C). A partir dessas funções, foi calculada a sensibilidade de cada fotorreceptor para os LEDs empregados nesse trabalho (Tabela 3; Figura 5, linhas verticais tracejadas).

Tabela 4. Sensibilidade espectral dos fotorreceptores para os LEDs usados nesse estudo. Valores normalizados e corrigidos para o *self-screening*.

Platirríneo	Fotorreceptor	Pico de absorção espectral do fotorreceptor, λ_{\max} (nm)	Pico de emissão espectral do LED (nm)	
			$G_{\lambda_{\max}} = 554$	$R_{\lambda_{\max}} = 638$
			Sensibilidade do fotorreceptor	
<i>Alouatta</i> <i>Cebus</i>	Cone S	433 ^a	12,9	0
<i>Alouatta</i> <i>Cebus</i> <i>Aotus</i>	Bastonete	500 ^b	48,43	0,2
<i>Alouatta</i>	Cone M	530 ^c	92,0	3,6
	Cone L	562 ^c	97,8	28,7
<i>Cebus</i>	Cone M	535 ^d	95,7	5,4
	Cone M/L	550 ^d	100	11,9
	Cone L	563 ^d	97,4	30,0
<i>Aotus</i>	Cone M/L	543 ^e	99,3	9,79

^aHunt *et al.*, 2005. O *Aotus* não possui cones S na retina (JACOBS *et al.*, 1993).

^bHunt *et al.*, 2005.

^cResultados a partir de seqüenciamento de DNA (JACOBS *et al.*, 1996a).

^dResultados eletrorretinográficos (JACOBS & NEITZ, 1987).

^eResultados a partir de seqüenciamento de DNA (JACOBS *et al.*, 1993).

FUNÇÃO DE SENSIBILIDADE ESPECTRAL
DOS FOTORRECEPTORES

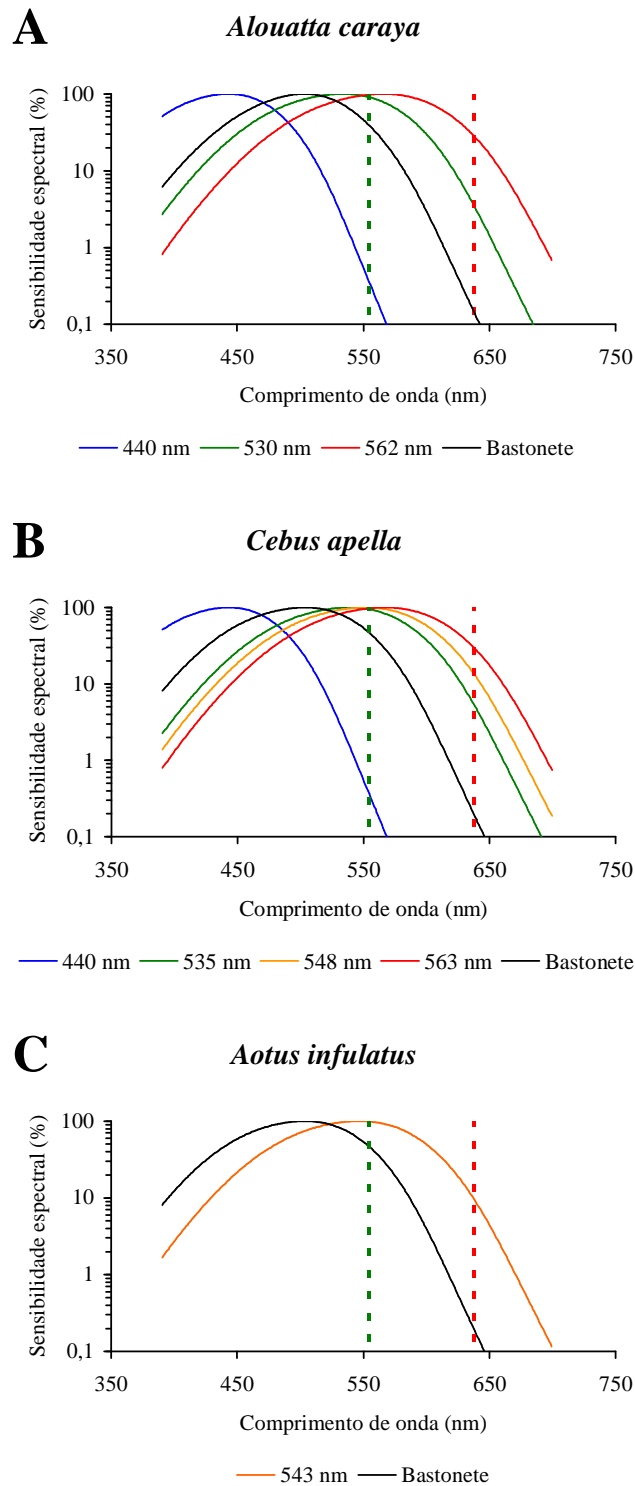


Figura 5. Funções de sensibilidade espectral dos fotorreceptores do *Alouatta caraya*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus* encontradas a partir da Equação de Lamb (1995) (Equação 5) e corrigidas para *self-screening* (Equação 6). Linhas verticais tracejadas verde e vermelha, representam o pico de emissão espectral do LED verde ($G_{\lambda_{\max}} = 554$) e vermelho ($R_{\lambda_{\max}} = 638$), respectivamente.

A partir de estudos anteriores, foram adotados os seguintes critérios sobre a contribuição dos diferentes tipos de fotorreceptores para as respostas das células M e P nesses antropóides no modelamento matemático da fisiologia dessas células:

- i) Os bastonetes podem contribuir para as células M e P do *Alouatta* somente sob baixas condições de iluminação retiniana, a partir do observado em estudos em *Macaca* (LEE *et al.*, 1997);
- ii) Os cones S não contribuem para as respostas das células ganglionares M e P (SUN *et al.*, 2006);
- iii) Para *Cebus* dicromata e *Aotus*, a contribuição dos bastonetes é ainda desconhecida, apesar de resultados preliminares mostrarem que ela é significativa tanto para células M quanto P até mesmo sob altos níveis de iluminação retiniana (*Cebus* dicromata: LEE *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001, 2003; *Aotus*: da SILVA FILHO *et al.*, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2000, 2001a, 2004a);
- iv) Por sua vez, os cones M e L, quando presentes na retina do antropóide, como parece ser o caso de *Alouatta*, contribuem conjuntamente tanto para o centro quanto para a periferia do campo receptivo da célula M, porém com uma polaridade oposta (antagonismo centro-periferia) (da SILVA FILHO *et al.*, 2003; SAITO *et al.*, 2004a, b, 2005a, b, c);
- v) Para antropóides dicromatas e monocromatas, como *Cebus* e *Aotus*, respectivamente, não é esperada a supracitada contribuição conjunta das respostas de dois fotorreceptores M e L devido à presença de somente um tipo de fotorreceptor M/L na retina. Porém a resposta desse fotorreceptor existente converge de modo antagônico para o centro e para a periferia do campo receptivo das células ganglionares M (*Cebus* dicromata: LEE *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001, 2003; *Aotus*: da SILVA FILHO *et al.*, 2000, SILVEIRA *et al.*, 2000, 2001a, 2004a);
- vi) Estudos anteriores (da SILVA FILHO *et al.*, 2003; SAITO *et al.*, 2004a, b, 2005a, b, c) sugerem que as células P do *Alouatta* apresentam uma contribuição seletiva dos fotorreceptores M e L de modo que a oponência de cores esteja presente em seu campo receptivo. Por exemplo, se o fotorreceptor L contribui de modo excitatório para o centro do campo receptivo, o fotorreceptor M contribui de modo inibitório para a periferia do campo receptivo e vice-versa;
- vii) As células P dos antropóides dicromatas e monocromatas não devem apresentar a oponência cromática supracitada e devem ser versões cegas para cores das células

P dos tricromatas (*Cebus dicromata*: LEE *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001, 2003; *Aotus*: da SILVA FILHO, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2000, 2001a, 2004a).

2.5.5 Fotometria com *flicker* heterocromático

Esse protocolo consistiu na modulação senoidal dos LEDs em oposição de fase com uma mudança gradativa e pré-determinada na proporção entre seus contrastes (LEE *et al.*, 2000). A proporção foi definida como sendo R_c/G_c , onde R_c era o contraste de Michelson do LED vermelho e G_c o do LED verde. O contraste de cada LED foi quantificado pela Equação 2. Cada uma das 19 proporções usadas (Figura 6) foram moduladas em 4 frequências temporais diferentes: 4,88 Hz, 9,76 Hz, 19,53 Hz e 39,06 Hz.

No início, o estímulo foi formado principalmente pelo LED verde com um contraste de 100%, enquanto o LED vermelho, em oposição de fase, tinha um contraste de 10%. Nessa proporção ($R_c/G_c = 0,1$), o estímulo apresentava um contraste de luminância máximo entre os LEDs e um contraste de cor mínimo entre os LEDs (Figura 6A).

Nas condições seguintes, o contraste do LED verde ficou constante, enquanto o contraste do LED vermelho foi incrementado em passos discretos de 10%, até o seu contraste alcançar o contraste do LED verde (Figura 6J). Nessa proporção ($R_c/G_c = 1$), o contraste de luminância entre os LEDs era mínimo e o de cor era máximo. Em seguida, o contraste do LED vermelho foi mantido constante e o contraste do LED verde foi diminuído gradativamente, em passos discretos de 10%, até alcançar o valor de 10% (Figura 6S), na última proporção ($R_c/G_c = 10$).

FOTOMETRIA COM *FLICKER* HETEROCROMÁTICO

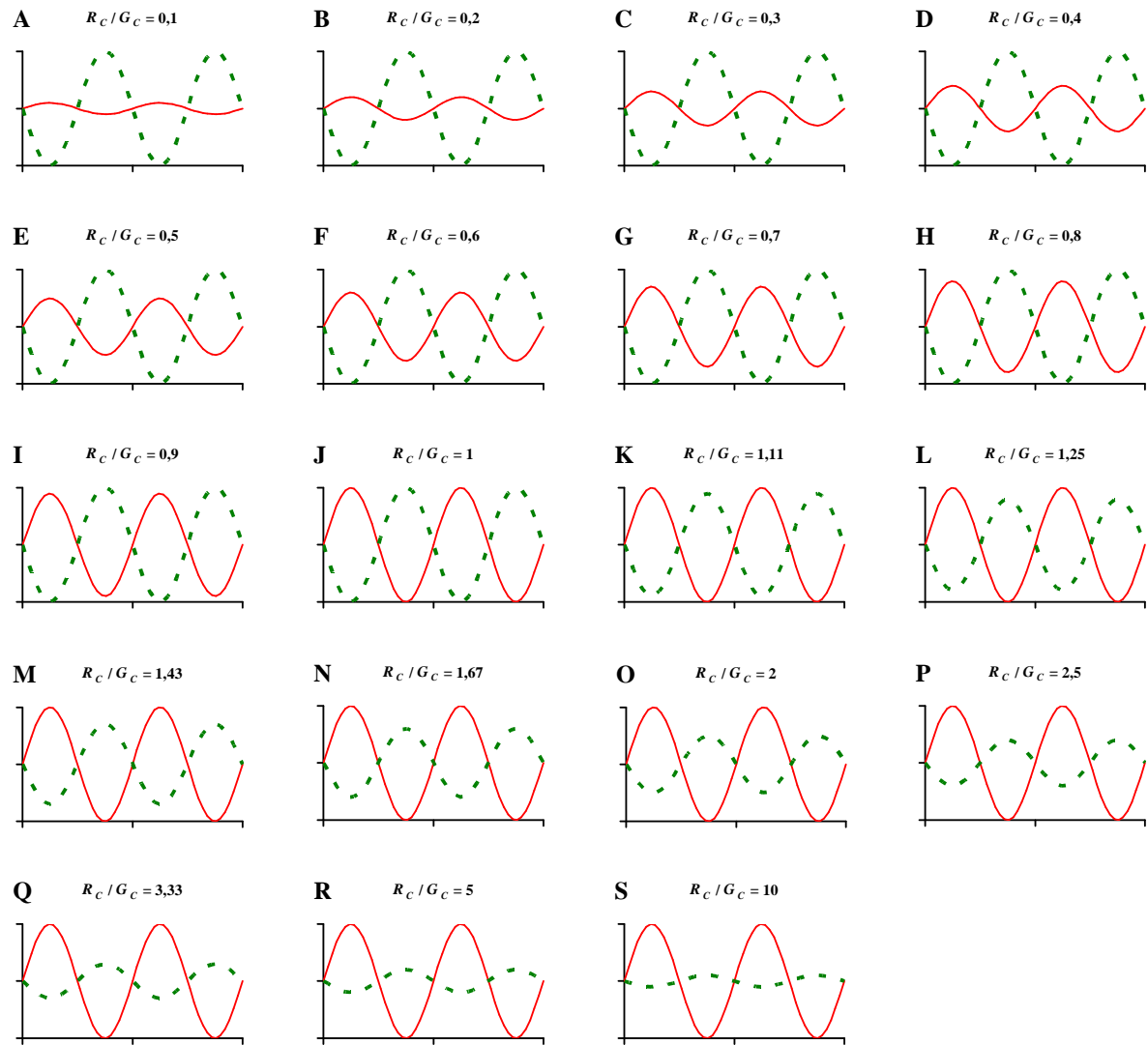


Figura 6. Estimulação pela fotometria com *flicker* heterocromático. Consistiu na modulação senoidal dos dois LEDs em oposição de fase e variando a proporção de luminância dos LEDs. As diferentes condições de estimulação estão ordenadas em ordem alfabética e dispostas como elas foram apresentadas durante o teste. O eixo das ordenadas é o contraste de Michelson dos LEDs e o das abscissas é o tempo para dois ciclos de estimulação. A linha verde tracejada e a linha vermelha cheia representam, respectivamente, o perfil de luminância do LED verde e do vermelho em cada condição. A razão entre os contrastes dos LEDs está mostrada no topo de cada gráfico, onde G_c é o contraste de Michelson do LED verde e R_c é o contraste de Michelson do LED vermelho.

Para a análise das respostas obtidas nesse protocolo, inicialmente foi modelado como cada fotorreceptor, isoladamente, responderia para o estímulo usado. Para tanto, foi adotado o seguinte modelo matemático para estimar a resposta esperada de cada um dos fotorreceptores para cada uma das 19 condições de estimulação (proporção entre os contrastes dos LEDs):

$$r = \left[\frac{(S_{554} \cdot G_C) - (S_{638} \cdot R_C)}{S_M} \right] \cdot \frac{1}{1000}, \quad (7)$$

onde r é a resposta esperada normalizada do fotorreceptor (imp / s) em uma dada proporção, S_{554} é a sensibilidade do fotorreceptor ao LED verde, G_C é o contraste do LED verde, S_{638} é a sensibilidade do fotorreceptor ao LED vermelho, R_C é o contraste do LED vermelho e S_M é o valor máximo da sensibilidade do fotorreceptor para os LED verde e vermelho (o valor máximo entre S_{554} e S_{638}) e que, portanto, depende de qual fotorreceptor está sendo modelado (Tabela 3) (LEE *et al.*, 2000). A Figura 7 mostra as respostas esperadas para os fotorreceptores do *Alouatta caraya*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus*. Cada fotorreceptor possui um mínimo de amplitude, característico e encontrado em uma determinada proporção entre os LEDs. Nessa proporção, a amplitude da resposta do fotorreceptor é próxima de zero, indicando que o mesmo não consegue responder à oscilação temporal do estímulo. Por exemplo, para o *Alouatta*, o cone L (562 nm) é silenciado em uma condição onde a proporção do LED verde é maior do que o do vermelho, já que o fotopigmento L é mais sensível ao LED vermelho (Figura 7C).

No presente estudo, foi adotado que as respostas dos fotorreceptores contribuem linearmente para a resposta eletrofisiológica. As respostas esperadas dos fotorreceptores foram usados para modelar a resposta eletrofisiológica da seguinte forma: inicialmente, para uma dada frequência temporal, a amplitude e a fase do primeiro harmônico da resposta foram colocadas no plano complexo usando as seguintes fórmulas:

$$R_x = R_a \cdot \cos \left[\frac{R_\theta}{180} \cdot \pi \right], \quad (8)$$

$$R_y = R_a \cdot \sin \left[\frac{R_\theta}{180} \cdot \pi \right], \quad (9)$$

onde R_x e R_y é a coordenada da resposta no plano complexo, R_a é a amplitude da resposta (imp/s) e R_θ é a fase da resposta em graus. Os valores de R_x e R_y foram obtidas em cada uma das condições de estimulação.

RESPOSTA ESPERADA DOS FOTORRECEPTORES PARA A
FOTOMETRIA COM *FLICKER* HETEROCROMÁTICO

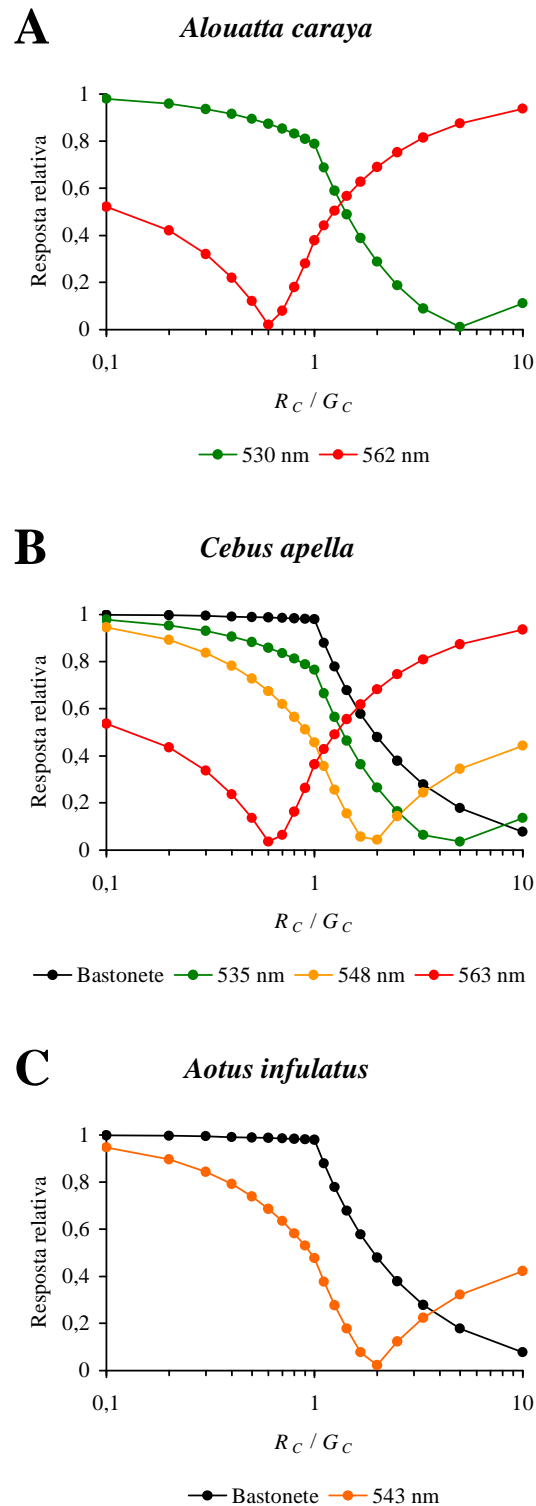


Figura 7. Resposta relativa esperada dos fotorreceptores de *Alouatta caraya*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus* para as condições do protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. R_C é o contraste do LED vermelho. G_C é o contraste do LED verde.

A resposta eletrofisiológica foi interpolada no plano complexo usando um modelo matemático assumindo que a resposta da célula ganglionar deva-se a uma somação vetorial das respostas de dois fotorreceptores, f e g , em cada condição de estimulação. O modelo é descrito pela seguinte equação:

$$M_x = \left[f_a \cdot f_r \cdot \cos\left(\frac{f_\theta}{180} \cdot \pi\right) \right] + \left[g_a \cdot g_r \cdot \cos\left(\frac{g_\theta}{180} \cdot \pi\right) \right], \quad (10)$$

$$M_y = \left[f_a \cdot f_r \cdot \sin\left(\frac{f_\theta}{180} \cdot \pi\right) \right] + \left[g_a \cdot g_r \cdot \sin\left(\frac{g_\theta}{180} \cdot \pi\right) \right], \quad (11)$$

onde M_x e M_y é a coordenada complexa do modelo para uma dada condição, f_r e g_r são as respostas esperadas para os fotorreceptores a serem ajustados à resposta celular e obtidas a partir da Equação 7. Os parâmetros livres f_a e f_θ são a amplitude e a fase da resposta para o primeiro fotorreceptor; e g_a e g_θ são a amplitude e a fase da resposta para o segundo fotorreceptor. Esses parâmetros foram ajustados para minimizar o erro entre a resposta e o modelo.

Os valores de M_x e M_y ajustados foram convertidos de volta para valores de amplitude e fase através das seguintes equações:

$$M_a = \sqrt{M_x^2 + M_y^2}, \quad (12)$$

$$M_\theta = \left[\frac{\arctan\left(\frac{M_y}{M_x}\right)}{\pi} \right] + \theta, \quad (13)$$

onde M_a e M_θ são, respectivamente, a amplitude (imp/s) e a fase (graus) do modelo ajustado. A constante θ é a correção de fase que foi aplicada em casos em que o ângulo retornado teve valores acima de 360° ou abaixo de -360° .

A contribuição ou peso relativo (W) de cada um dos fotorreceptores para a resposta foi quantificada a partir da seguinte equação:

$$W = \frac{f_a}{(f_a + g_a)}, \quad (14)$$

onde f_a e g_a , são, respectivamente, a resposta do fotorreceptor f e a resposta do fotorreceptor g . W é um valor adimensional entre 0 e 1: quanto mais próximo de 1, maior foi a contribuição do fotorreceptor f para a resposta; quanto mais próximo de 0, a resposta recebeu uma contribuição maior do fotorreceptor g (LEE *et al.*, 2000).

2.5.6 Protocolo de fase

Esse estímulo foi originalmente usado em experimentos psicofísicos (LINDSEY *et al.*, 1986) para estudar a percepção da diferença de fase relativa de um estímulo e, posteriormente, adaptado para registro extracelular (SMITH *et al.*, 1992; LEE *et al.*, 2000). Consistiu na modulação senoidal dos LEDs com uma mudança gradativa na diferença da fase relativa destas luzes. Não houve diferença de contraste entre os LEDs. Foram 16 condições de estimulação diferentes para cada uma das 6 frequências temporais possíveis: 1,22 Hz, 2,44 Hz, 4,88 Hz, 9,76 Hz, 19,53 Hz e 39,06 Hz (Figura 8). O contraste de Michelson (Fórmula 2) foi geralmente mantido em 100%, exceto se a célula apresentasse saturação de amplitude. Nesse caso, o contraste era diminuído para 50% ou menos. Para todas as condições, a fase do LED vermelho (R_θ) foi mantida constante, enquanto houve um aumento gradativo da fase do LED verde (G_θ) em passos discretos de $22,5^\circ$. Inicialmente o estímulo consistiu dos LEDs em oposição de fase. Nessa condição, o estímulo apresentou entre os LEDs um contraste de luminância mínimo e um de cor máximo (Figura 8A). Em seguida, a fase do LED verde foi monotonicamente adiantada de $22,5^\circ$, aumentando a diferença da fase relativa entre os LEDs. Na nona condição (Figura 8I), o estímulo apresentou um contraste de luminância máximo e de cor mínimo entre os LEDs, pois a diferença de fase relativa foi de 0° . Na última condição a diferença de fase entre os LEDs foi de $167,5^\circ$ (Figura 8P).

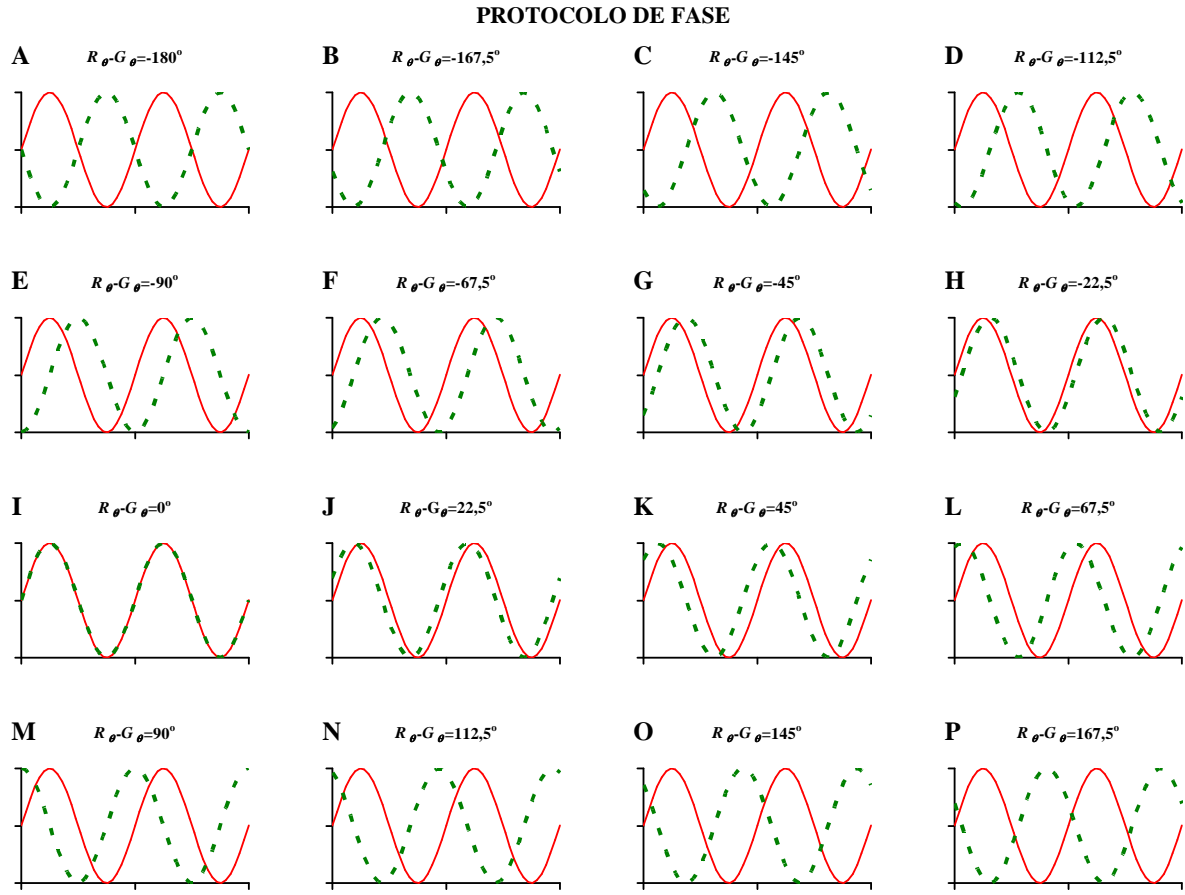


Figura 8. Estimulação pelo protocolo de fase. Consistiu na modulação senoidal dos LEDs, eqüiluminantes, variando a fase do LED verde, enquanto que a fase do LED vermelho foi mantida constante. As diferentes condições de estimulação estão numeradas em ordem alfabética e organizadas como elas foram apresentadas. O eixo das ordenadas representa o contraste de Michelson do estímulo e o das abscissas o tempo para dois ciclos de estimulação. A linha verde tracejada e a linha vermelha cheia representam, respectivamente, o perfil de luminância do LED verde e do LED vermelho em cada condição. A diferença da fase relativa do LED vermelho, R_θ , menos a fase relativa do LED verde, G_θ , em graus, está mostrada no topo de cada gráfico. O contraste de Michelson representado é de 100%.

De modo semelhante ao procedimento descrito anteriormente para a fotometria com *flicker* heterocromático, foram estimadas a amplitude e a fase da resposta de cada fotorreceptor ao protocolo, através das seguintes equações:

$$a = \sqrt{S_{554}^2 + S_{638}^2 + 2 \cdot S_{554} \cdot S_{638} \cdot \cos \left[\frac{R_\theta - G_\theta}{180} \cdot \pi \right]}, \quad (15)$$

$$\theta = \arctan \left(\frac{S_{554} \cdot \sin \left[\frac{R_\theta - G_\theta}{180} \cdot \pi \right]}{S_{638} + S_{554} \cdot \cos \left[\frac{R_\theta - G_\theta}{180} \cdot \pi \right]} \right), \quad (16)$$

onde a é a amplitude (normalizada) e θ é a fase da resposta esperada do fotorreceptor (graus); S_{554} é a sensibilidade do fotorreceptor ao LED verde, S_{638} é a sensibilidade do fotorreceptor ao

LED vermelho, G_θ é a fase do LED verde e R_θ , a do LED vermelho (LEE *et al.*, 2000). Em cada uma das 16 condições de estimulação do protocolo de fase, foram calculados os valores de amplitude e de fase para cada um dos fotorreceptores. A Figura 9 mostra a resposta esperada dos fotorreceptores de *Alouatta caraya*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus* obtidas a partir das equações acima. De acordo com o pico de absorção de cada fotorreceptor, a amplitude e a fase da resposta esperada mudam em função da diferença de fase entre os LEDs. Então, no *Alouatta*, ambos os cones M e L apresentam uma amplitude máxima de resposta quando os dois LEDs estão em fase (Figura 9E). Por outro lado, o cone L apresenta a fase da resposta mais horizontal, pois a fase do LED vermelho, para o qual ele é mais sensível (Tabela 3), é mantida constante nesse protocolo, enquanto que o cone M apresenta uma fase da resposta mais diagonal, acompanhando a diferença linear de fase do LED verde em relação ao vermelho nas diferentes condições de estimulação. Também de modo semelhante ao protocolo anterior, para estudar a contribuição dos fotorreceptores para a resposta eletrofisiológica, a amplitude (R_a) e a fase (R_θ) do primeiro harmônico dos histogramas foram extraídos e posteriormente convertidos para o plano complexo (R_x , R_y) usando as Equações 8 e 9. Os valores de R_x e R_y foram obtidos em cada uma das condições de estimulação. Foi usado um modelo matemático para interpolar os dados convertidos no sistema de coordenadas complexas. Esse modelo considera a resposta da célula ganglionar como sendo o resultado de uma soma vetorial das respostas dos fotorreceptores f e g aos LEDs verde e vermelho:

$$M_x = k \cdot W \cdot f_a \cdot \cos\left(\frac{f_\theta + \theta_C}{180} \cdot \pi\right) + k \cdot (1-W) \cdot g_a \cdot \cos\left(\frac{g_\theta + \theta_P}{180} \cdot \pi\right), \quad (17)$$

$$M_y = k \cdot W \cdot f_a \cdot \sin\left(\frac{f_\theta + \theta_C}{180} \cdot \pi\right) + k \cdot (1-W) \cdot g_a \cdot \sin\left(\frac{g_\theta + \theta_P}{180} \cdot \pi\right), \quad (18)$$

onde M_x e M_y é a coordenada do modelo no plano complexo, f_a é a amplitude e f_θ é a fase da resposta do fotorreceptor f , g_a é a amplitude e g_θ é a fase da resposta do fotorreceptor g (Equações 15 e 16). Nesse modelo para o protocolo de fase existem 4 parâmetros livres: k que é um fator escalar para a amplitude, W que é razão de contribuição entre os fotorreceptores f e g , θ_C e θ_P , que são a fase de ativação do centro e da periferia do campo receptivo, respectivamente. Com esses parâmetros, M_x e M_y foram convertidos em amplitude e fase para cada condição de estimulação com as Equações 12 e 13. A razão W , encontrada a partir de um das Fórmulas 17 ou 18, é um valor adimensional entre 0 e 1; quanto mais próximo de 0, mais a resposta eletrofisiológica foi determinada pela sensibilidade do fotorreceptor g ; se for próximo de 1, a resposta foi mais dominada pelo fotorreceptor f .

RESPOSTA ESPERADA DOS FOTORRECEPTORES
PARA O PROTOCOLO DE FASE

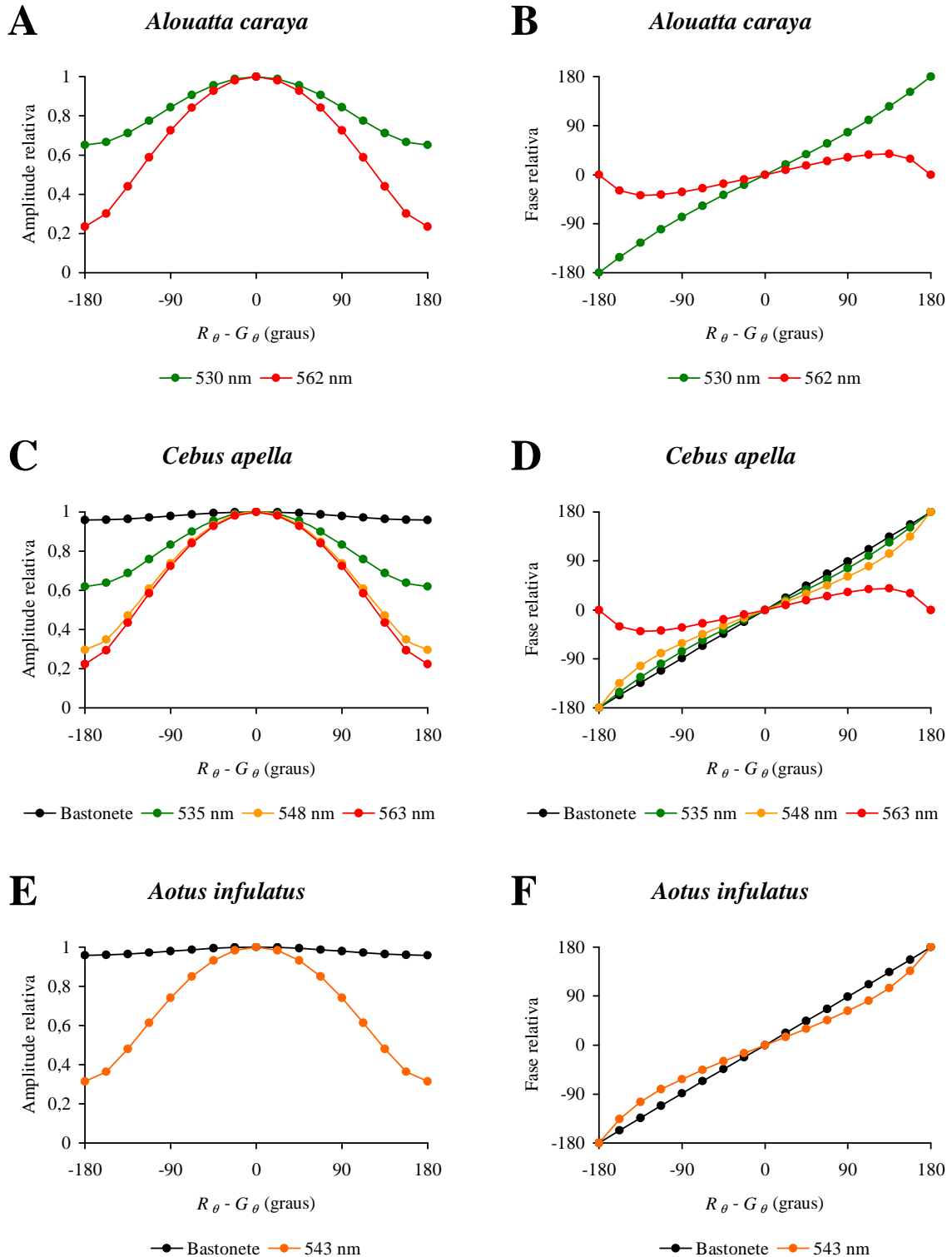


Figura 9. Amplitude e fase da resposta esperada dos fotorreceptores do *Alouatta caraya*, *Cebus apella* e *Aotus infulatus* para o protocolo de fase. G_θ é a fase do LED verde e R_θ é a fase do LED vermelho.

3 RESULTADOS

Foram registradas as células ganglionares de sete dos nove primatas destinados a este estudo. Dois animais, um *Alouatta* macho e um *Cebus* macho, não foram estudados após confirmação de que a ótica de seus olhos estava comprometida, fato que inviabiliza o experimento. Para os outros animais, o experimento teve uma duração variável, mínimo de 1 e máximo de 3 dias.

A retina esquerda de cada animal foi a inicialmente usada em todos os experimentos e, em dois primatas, um *Cebus* e um *Aotus*, as células ganglionares retinianas do olho direito também puderam ser registradas. Nesses dois últimos casos, após um a dois dias de experimentos, os animais mostravam parâmetros fisiológicos dentro dos padrões de normalidade adotados para esse estudo, estáveis o suficiente para a realização do experimento no olho direito. Como esperado, não encontramos diferenças nas propriedades fisiológicas das células ganglionares registradas entre os olhos direito e esquerdo, para indivíduos de uma mesma espécie. Portanto, esses resultados foram agrupados.

As células registradas nesse estudo totalizaram 36 células ganglionares de *Alouatta*, 41 células ganglionares de *Cebus* e 38 células ganglionares de *Aotus*. Para o *Alouatta*, foram analisados os registros de 20 células (55,55% do total de células registradas). As respostas de 27 células (65,85% das células registradas) foram analisadas para o *Cebus*. Por fim, para o *Aotus*, 33 células (86,8% das células registradas) tiveram suas respostas analisadas.

Algumas células registradas não tiveram suas respostas analisadas pelas seguintes razões: perda da resposta celular durante as séries de registro; captura da resposta de uma célula adicional durante o registro, dificultando o isolamento da resposta unitária; ocorrência de problemas no sistema de aquisição de dados e/ou de problemas no sistema de estimulação visual durante os experimentos.

A Tabela 4 detalha a ordem em que os experimentos foram realizados, a espécie, o código do animal com o seu sexo, código esse empregado ao longo da apresentação dos resultados e da discussão, o número aproximado de dias que durou o experimento e o número de células registradas e analisadas em cada retina.

Tabela 5. Sumário dos resultados experimentais.

Ordem dos testes	Espécie	Código	Duração (dias)	Retina	Número de células	
					Registradas	Analisadas
01	<i>Cebus apella</i>	Ca01♂	–	Esquerda	–	–
				Direita	–	–
02	<i>Cebus apella</i>	Ca02♂	2	Esquerda	15	6
				Direita	–	–
03	<i>Aotus infulatus</i>	Ai01♀	2	Esquerda	5	5
				Direita	–	–
04	<i>Cebus apella</i>	Ca03♀	3	Esquerda	21	17
				Direita	5	4
05	<i>Aotus infulatus</i>	Ai02♂	1	Esquerda	5	5
				Direita	–	–
06	<i>Aotus infulatus</i>	Ai03♀	2	Esquerda	21	17
				Direita	7	6
07	<i>Alouatta caraya</i>	Ac01♂	2	Esquerda	16	11
				Direita	–	–
08	<i>Alouatta caraya</i>	Ac02♂	–	Esquerda	–	–
				Direita	–	–
09	<i>Alouatta caraya</i>	Ac03♂	2	Esquerda	20	9
				Direita	–	–

Para a apresentação desses resultados, inicialmente serão mostrados exemplos de como foi realizada a distinção entre as células ganglionares fásicas das tônicas, a partir de suas responsabilidades aos pulsos temporais de luminância e de cor. Em seguida, os resultados obtidos serão apresentados na seguinte ordem: protocolo da Função de Transferência de Modulação Temporal de luminância e de cor, protocolo da Fotometria com *Flicker* Heterocromático, e protocolo de fase. Em cada um desses protocolos, serão mostradas respostas individuais, porém representativas, das células ganglionares fásicas e tônicas registradas nas retinas do *Alouatta*, do *Cebus* e do *Aotus*.

3.1 CLASSIFICAÇÃO FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS GANGLIONARES

Foram encontradas duas principais populações de células ganglionares retinianas em todos os antropóides estudados, as quais foram classificadas como fásicas ou tônicas de acordo, respectivamente, com a variação transiente ou sustentada da resposta provocada pela apresentação dos estímulos. As células fásicas foram subdivididas em *on* ou *off* e se caracterizaram por apresentarem uma alta sensibilidade de luminância, mas uma baixa responsividade para estímulos cromáticos. Todas células tônicas mostraram uma baixa sensibilidade de luminância e aquelas com oponência de cores foram subdivididas de acordo com a sua sensibilidade cromática para os pulsos temporais cromáticos (Ver seção 1.3. da Introdução). Os resultados apresentados abaixo foram obtidos com uma iluminância retiniana de 2000 Td.

3.1.1 *Alouatta caraya*

As respostas das células ganglionares do *Alouatta caraya* foram semelhantes às aquelas descritas para pulsos no *Cebus trichromata* (Lee *et al.*, 2000).

3.1.1.1 Células ganglionares fásicas

A Figura 10 mostra uma célula ganglionar do animal Ac01♂, fásica, pois sua responsividade mudou de modo transiente com a apresentação do estímulo. Essa célula foi subclassificada como *on*, pois foi excitada durante as apresentações dos incrementos de luminância (Figuras 10A – 10D) e inibida durante as apresentações dos decrementos de luminância (Figuras 10E – 10H). Foram encontradas também na retina do *Alouatta* células fásicas *off*, semelhantes à célula exemplificada na Figura 11, a qual foi obtida também no animal Ac01♂. Essas células foram inibidas durante as apresentações dos contrastes positivos de luminância (Figuras 11A – 11D) e excitadas durante as apresentações dos contrastes

negativos de luminância (Figuras 11E – 11H). As células fásicas foram marcadamente sensíveis para o pulso de luminância pois responderam aos menores níveis de contrastes positivos e negativos de Weber (*on*: Figuras 10E; *off*: Figuras 11A, 11E). Nos contrastes máximos de 100% e -100%, algumas células apresentaram certas não-linearidades, como respostas *on* e *off* simultaneamente, em seus registros (Figuras 10D, 10H).

Quando estimuladas com pulsos de cor, as células fásicas mostraram uma diminuição em sua responsividade: por exemplo, a célula fásica *off* da Figura 11 não apresentou respostas visíveis para ambas as direções de cor e na maioria dos contrastes cromáticos testados nesse protocolo (Figura 12). Essa responsividade diminuída aos estímulos cromáticos foi encontrada com grande frequência nas células fásicas do *Alouatta*.

Célula ganglionar fásica *on* da retina do *Alouatta*

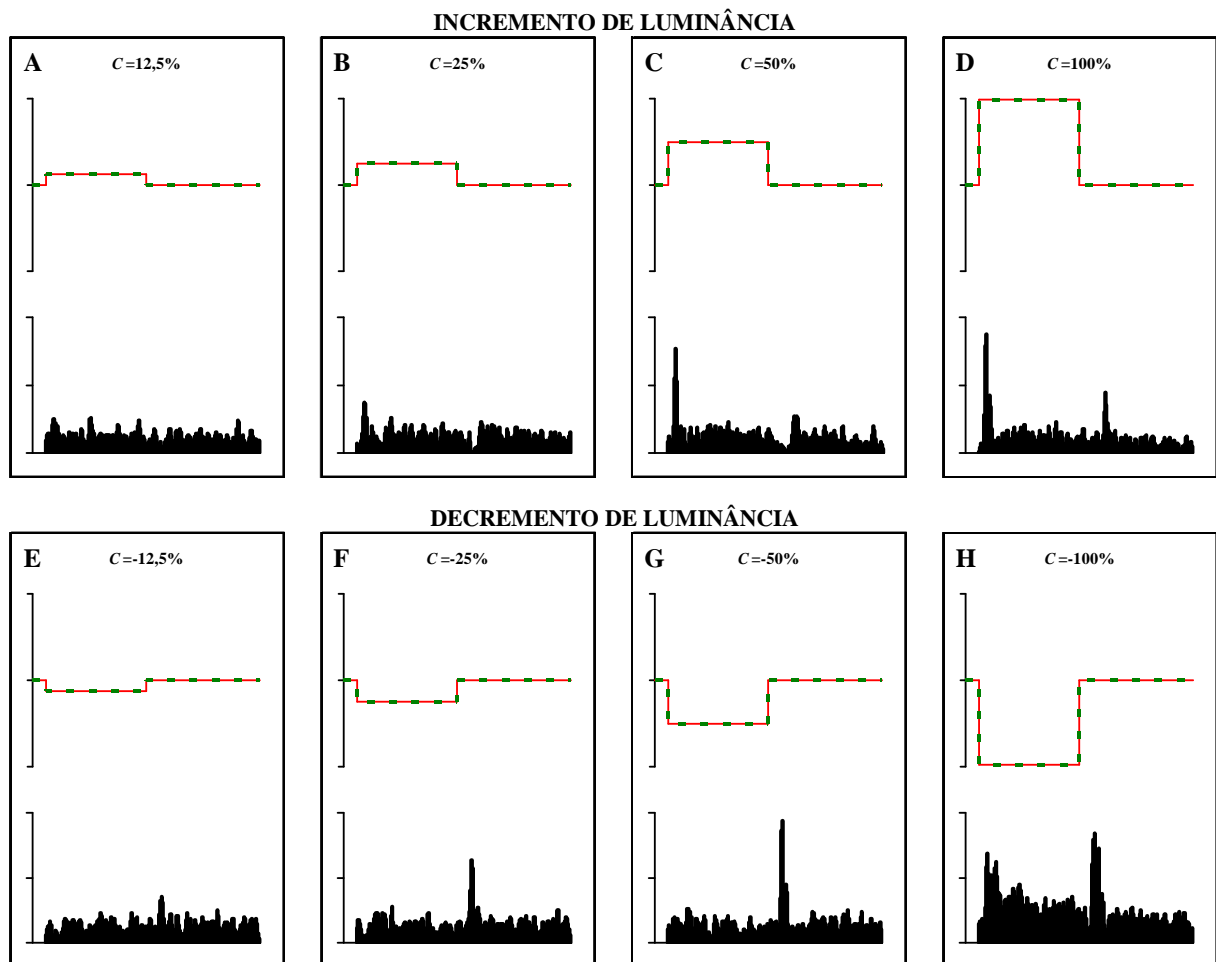


Figura 10. Respostas de uma célula ganglionar fásica *on* do *Alouatta* para o protocolo de pulso de luminância. O aumento do contraste positivo provocou, de modo transitente, uma maior atividade celular, enquanto que o aumento do contraste negativo provocou uma inibição transitente. Esta célula foi classificada qualitativamente como fásica. Duração do pulso: 400 ms. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

Célula ganglionar fásica *off* da retina do *Alouatta*

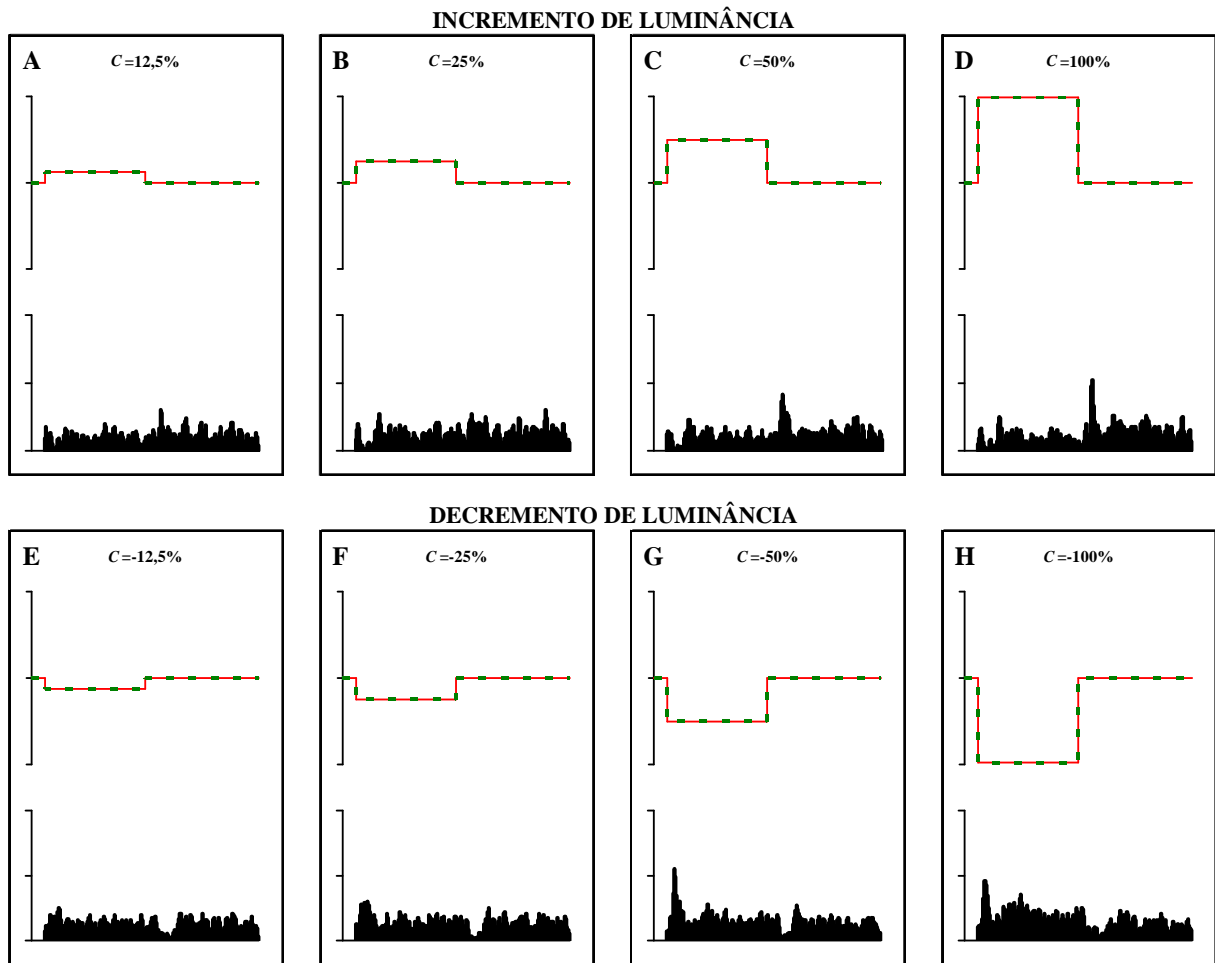


Figura 11. Célula ganglionar fásica *off* do *Alouatta*. Respostas para o protocolo de pulso de luminância. De modo contrário à célula *on*, o aumento do contraste positivo provocou uma inibição transitente da atividade celular, enquanto que o aumento do contraste negativo excitou de modo transitente a célula. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

Célula ganglionar fásica *off* da retina do *Alouatta*

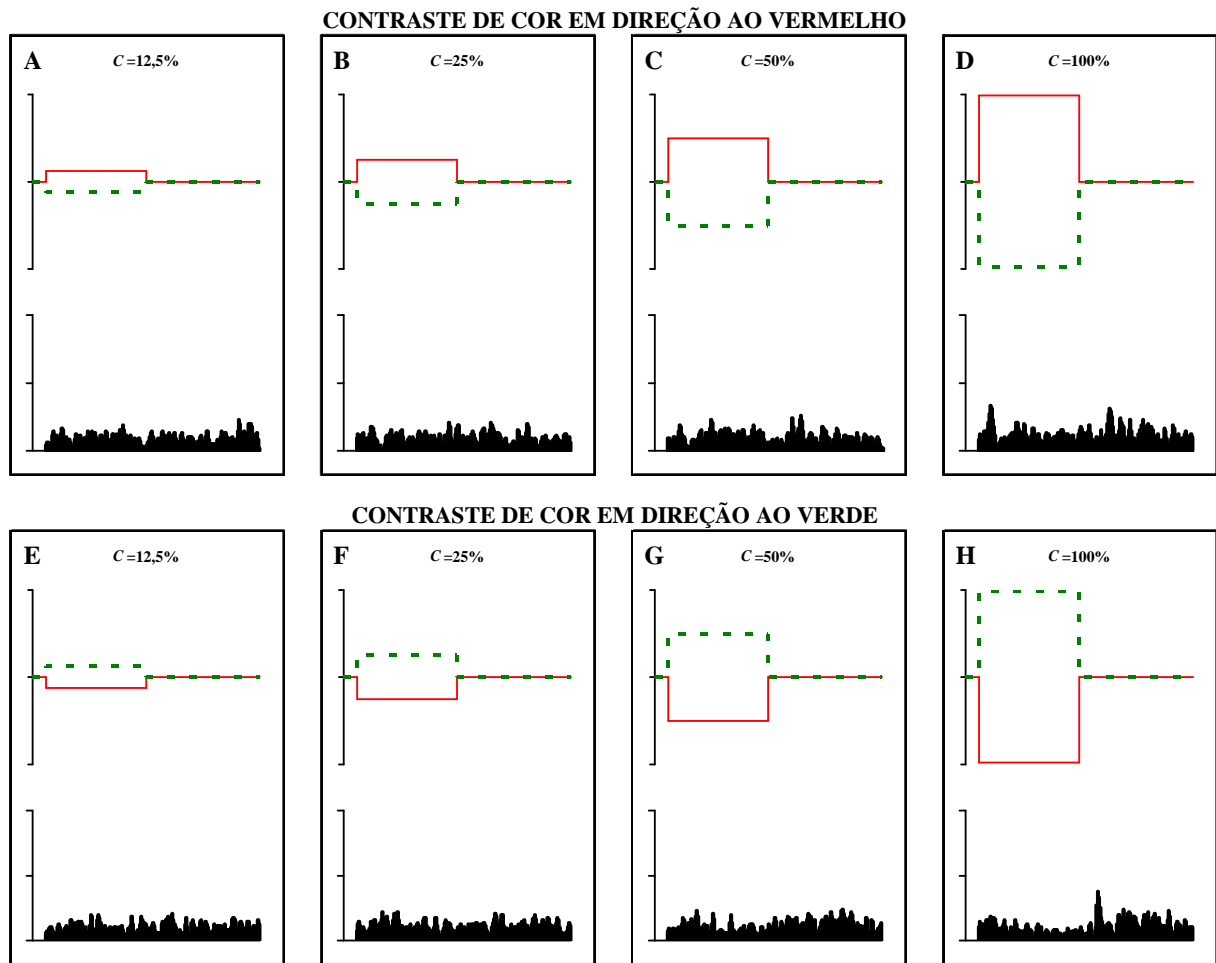


Figura 12. Célula ganglionar fásica *off* do *Alouatta* e sua responsividade para o protocolo de pulso de cor. Essa célula, a mesma da Figura 11, mostrou-se pouco responsiva para os estímulos cromáticos. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.1.1.2 Células ganglionares tônicas

Uma célula representativa da outra classe de células ganglionares encontrada na retina do *Alouatta* está mostrada na Figura 13. Essa célula, registrada no animal Ac01♂, foi classificada como tônica por apresentar uma baixa responsividade ao estímulo acromático (se comparada às células fásicas) e a sua resposta, quando presente, foi sustentada com a duração do estímulo. Mais especificamente, ocorreu uma inibição sustentada da resposta com o contraste positivo de luminância (Figura 13D) e uma excitação sustentada da resposta com o contraste negativo de luminância (Figura 13G). Em altos contrastes de luminância, também foram encontradas não-linearidades na responsividade de algumas células tônicas (Figura 13H).

Célula ganglionar tônica $M+L$ - da retina do *Alouatta*

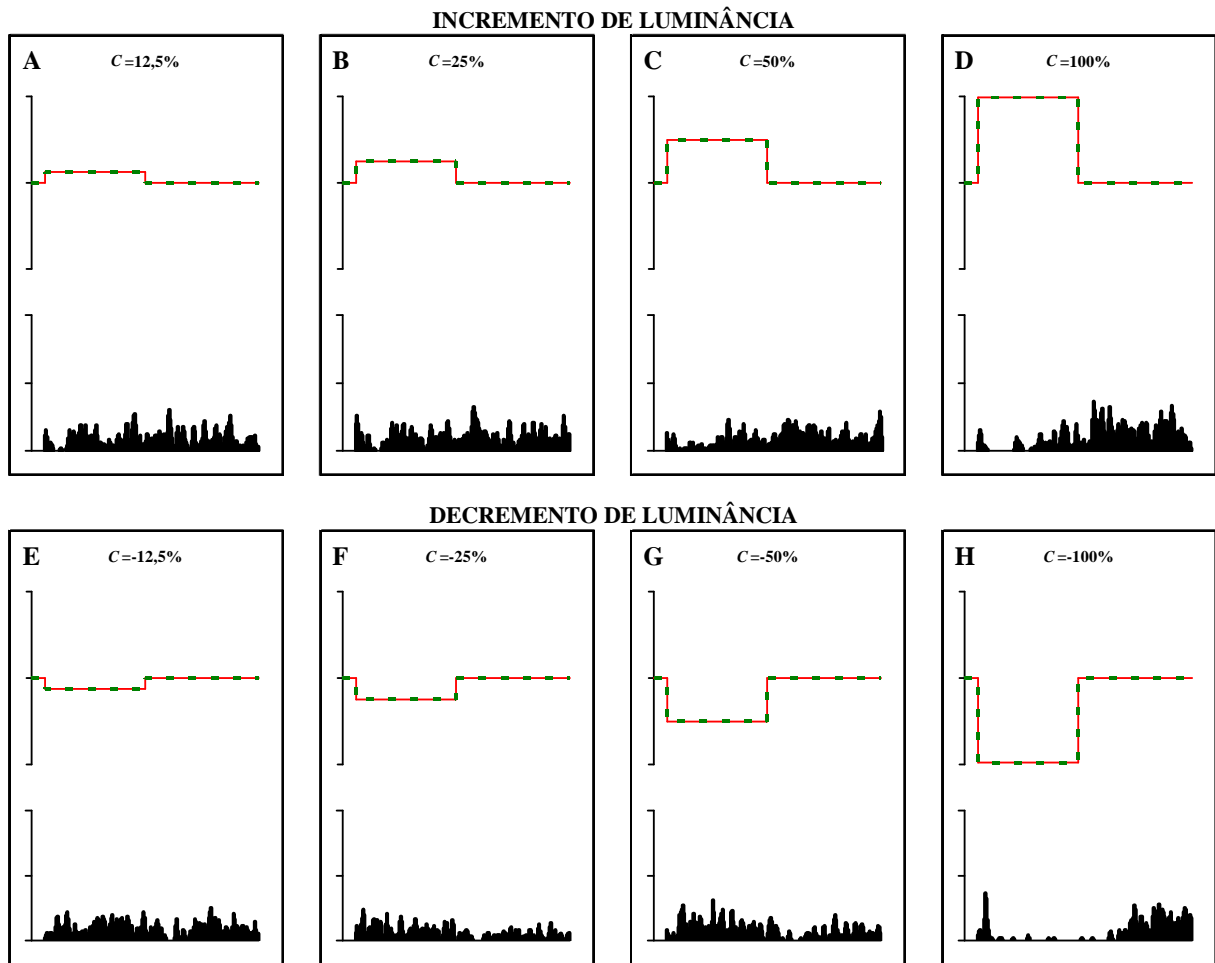


Figura 13. Célula ganglionar, classificada como tônica, do *Alouatta*. Estimulação pelo protocolo de pulso de luminância. Essas células apresentaram uma responsividade sustentada, assim como uma menor sensibilidade para os estímulos acromáticos. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

Essa mesma célula respondeu de modo sustentado e vigoroso aos pulsos de cor (Figura 14) o que corrobora a sua classificação como célula tônica. Como a resposta da célula foi inibida por contrastes em direção ao vermelho e excitada por contrastes em direção ao verde, essa célula poderia ser classificada como $M+L-$ (Ver seção 1.3. da Introdução). Todas as variedades de células ganglionares tônicas encontradas na retina do *Alouatta* ($M+L-$, $M-L+$, $L+M-$, $L-M+$), apresentaram uma maior sensibilidade para os pulsos cromáticos do que os acromáticos.

Célula ganglionar tônica *M+L* - da retina do *Alouatta*

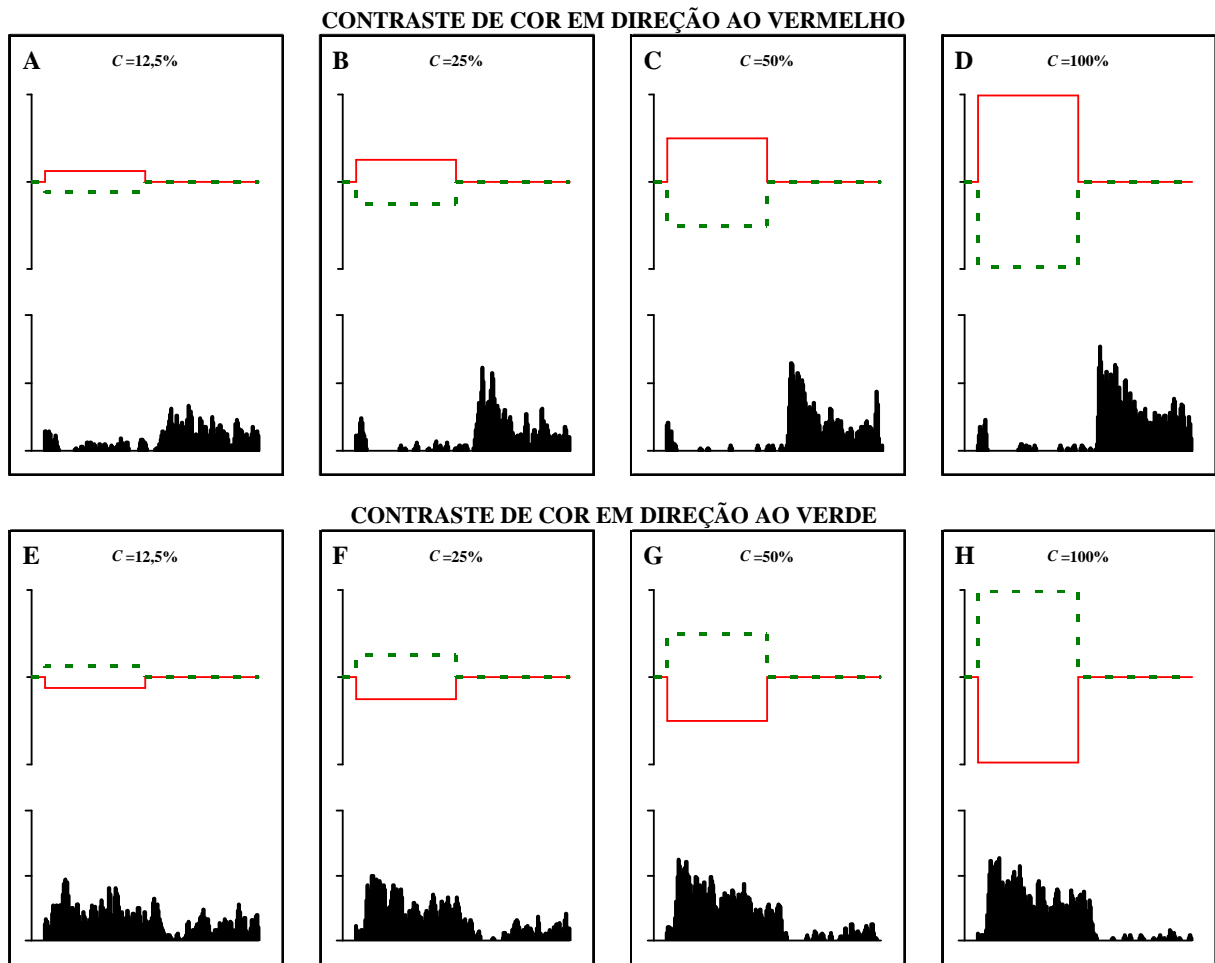


Figura 14. Célula ganglionar, classificada como tônica, do *Alouatta*. Respostas para o protocolo de pulso de cor. As células tônicas apresentaram uma maior responsividade sustentada para os estímulos cromáticos do que para os de luminância. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.1.2 *Cebus apella*

Na retina do *Cebus* dicromata também foram encontradas células ganglionares fásicas e tônicas, cujas respostas aos pulsos de luminância foram similares aos resultados previamente descrito por Lee e colaboradores em indivíduos tricromatas dessa mesma espécie (Lee *et al.*, 2000). De modo característico, as células ganglionares tônicas não responderam aos pulsos de cor, propriedade esta também condizente com a literatura (Lee *et al.*, 2000). Todos os resultados apresentados abaixo foram obtidos com uma iluminância retiniana de 2000 Td.

3.1.2.1 Células ganglionares fásicas

A Figura 15 mostra uma células fásica *on*, obtida no animal Ca03♀. Para os contrastes positivos acromáticos (Figuras 15A – 15D), a responsividade dessa célula foi transiente e positiva, enquanto que para os contrastes negativos acromáticos (Figuras 15E – 15H), a célula foi inibida de modo transiente. Como esperado, as células fásicas *off* mostraram uma responsividade inversa a esse protocolo de estimulação, isto é, foram inibidas pelo contraste positivo e excitadas pelo contraste negativo (não mostrado). Assim como no *Alouatta*, de modo geral, todas as células fásicas apresentaram uma alta sensibilidade de luminância, com respostas visíveis até mesmo no menor nível de contraste empregado (Figura 15A, 15E). Nos contrastes de 100% e de -100%, algumas células apresentaram não-linearidades na sua responsividade (Figuras 15D). Essa mesma célula fásica também foi registrada sob estimulação com o protocolo de pulsos temporais cromáticos (Figura 16). Nesse caso, a célula não respondeu aos contrastes de cor abaixo de 50%, similar à célula fásica do *Alouatta* (Figura 12).

Célula ganglionar fásica *on* da retina do *Cebus* dicromata

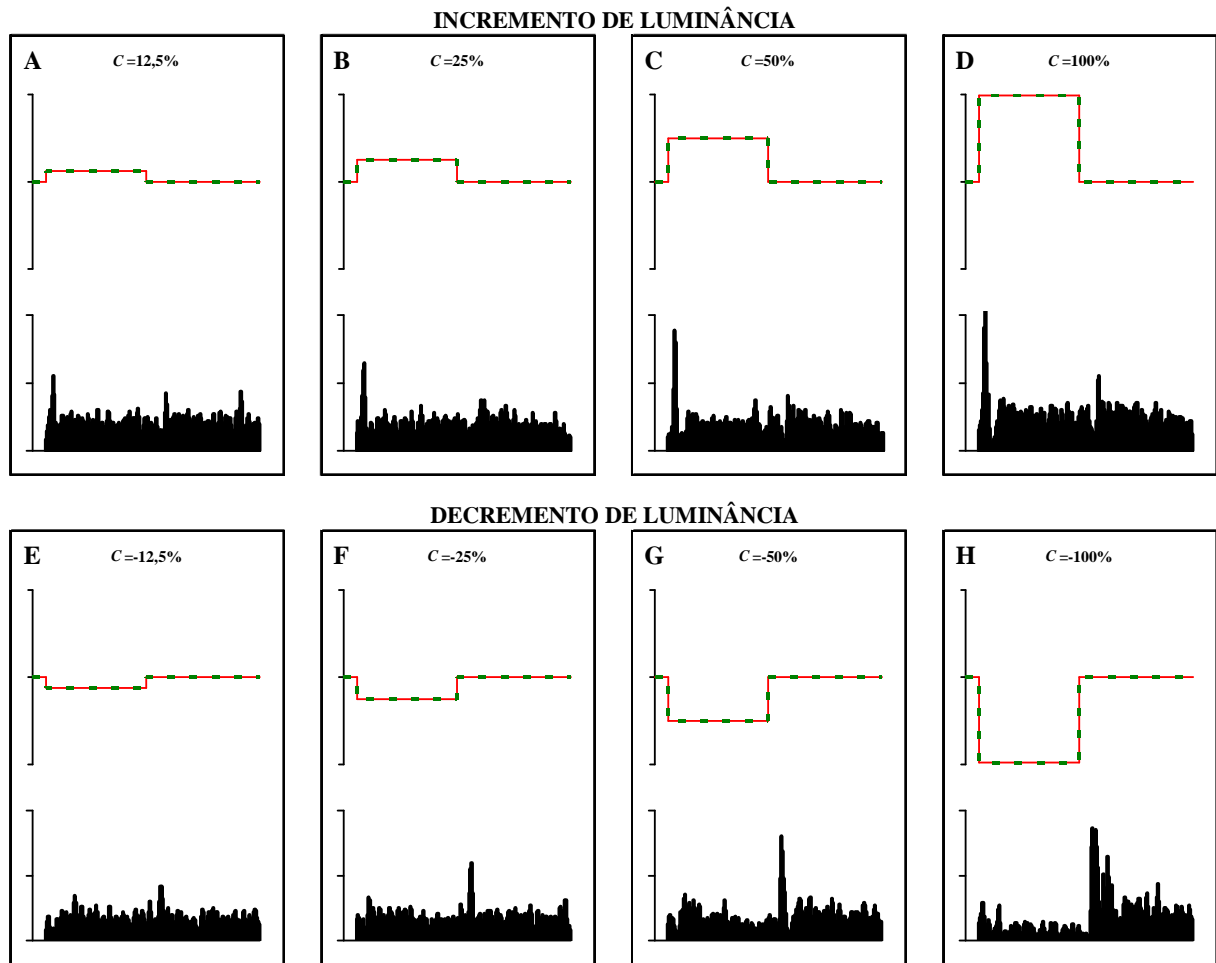


Figura 15. Respostas, para o protocolo de pulso de luminância, de uma célula ganglionar classificada como fásica e *on* do *Cebus* dicromata. O aumento do contraste positivo provocou, de modo transitente, uma maior atividade celular, enquanto que o aumento do contraste negativo provocou uma inibição, também transitente. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

Célula ganglionar fásica *on* da retina do *Cebus* dicromata

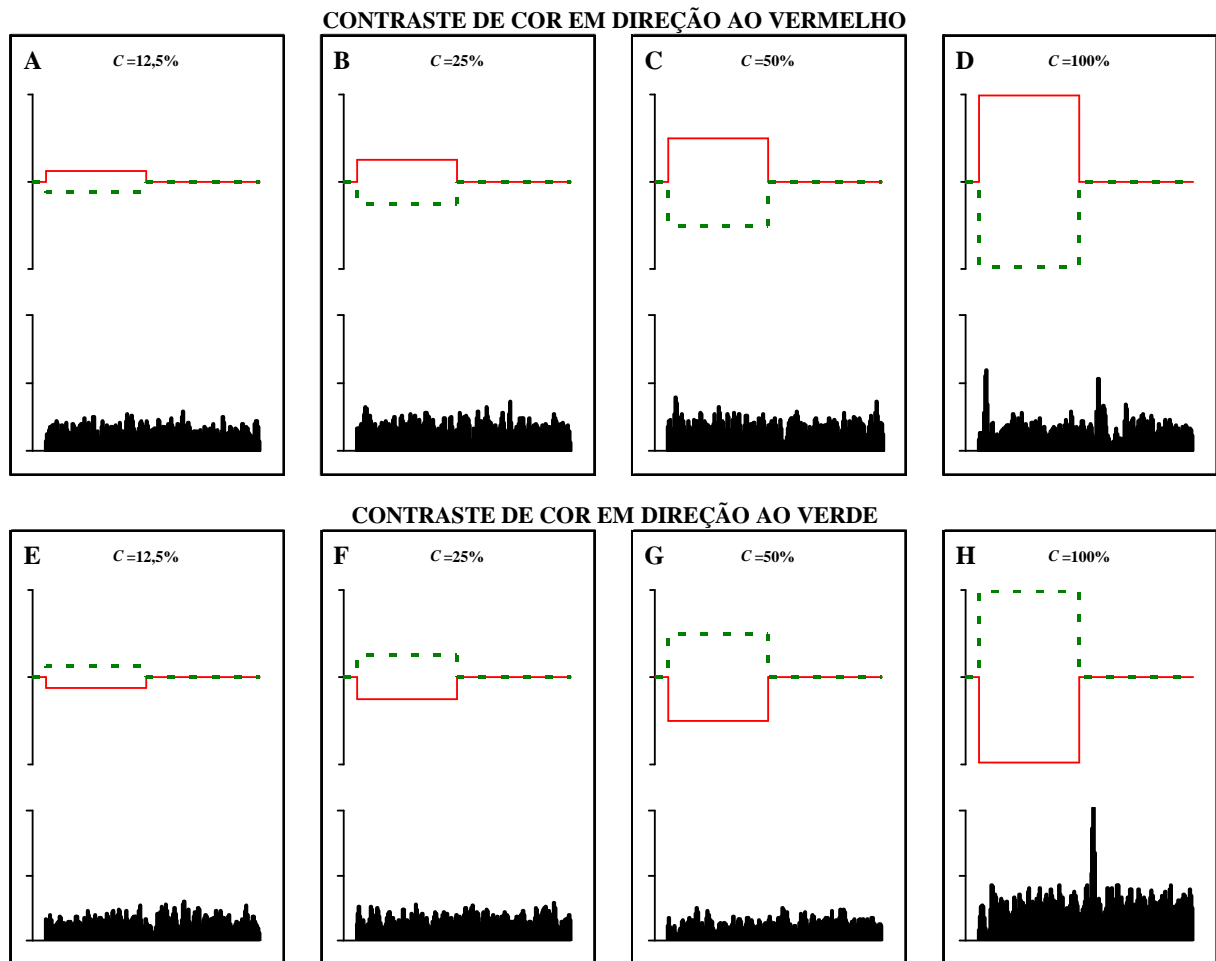


Figura 16. Célula ganglionar do *Cebus* dicromata, classificada como fásica e *on*. Respostas para o protocolo de pulso de cor. Mesmo sob contrastes de cor médios, a célula fásica mostrou-se pouco responsiva. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.1.2.2 Células ganglionares tônicas

As células ganglionares que mostraram uma resposta sustentada para os pulsos de luminância e de cor foram classificadas como células tônicas. Um exemplo representativo dessa classe para a amostra obtida no presente estudo é mostrada na Figura 17. Essa célula, registrada no animal Ca02♂, se caracterizou por uma atividade mais sustentada e pela baixa sensibilidade aos estímulos de luminância, pois só começou a responder a partir de contrastes médios tanto positivos quanto negativos (Figura 17C, 17G). A Figura 18 mostra uma outra célula tônica, nesse mesmo animal, registrada sob estimulação pelo protocolo cromático. Não houve resposta celular evidente em qualquer uma das duas direções de cores e para todos os contrastes cromáticos testados.

Célula ganglionar tônica da retina do *Cebus* dicromata

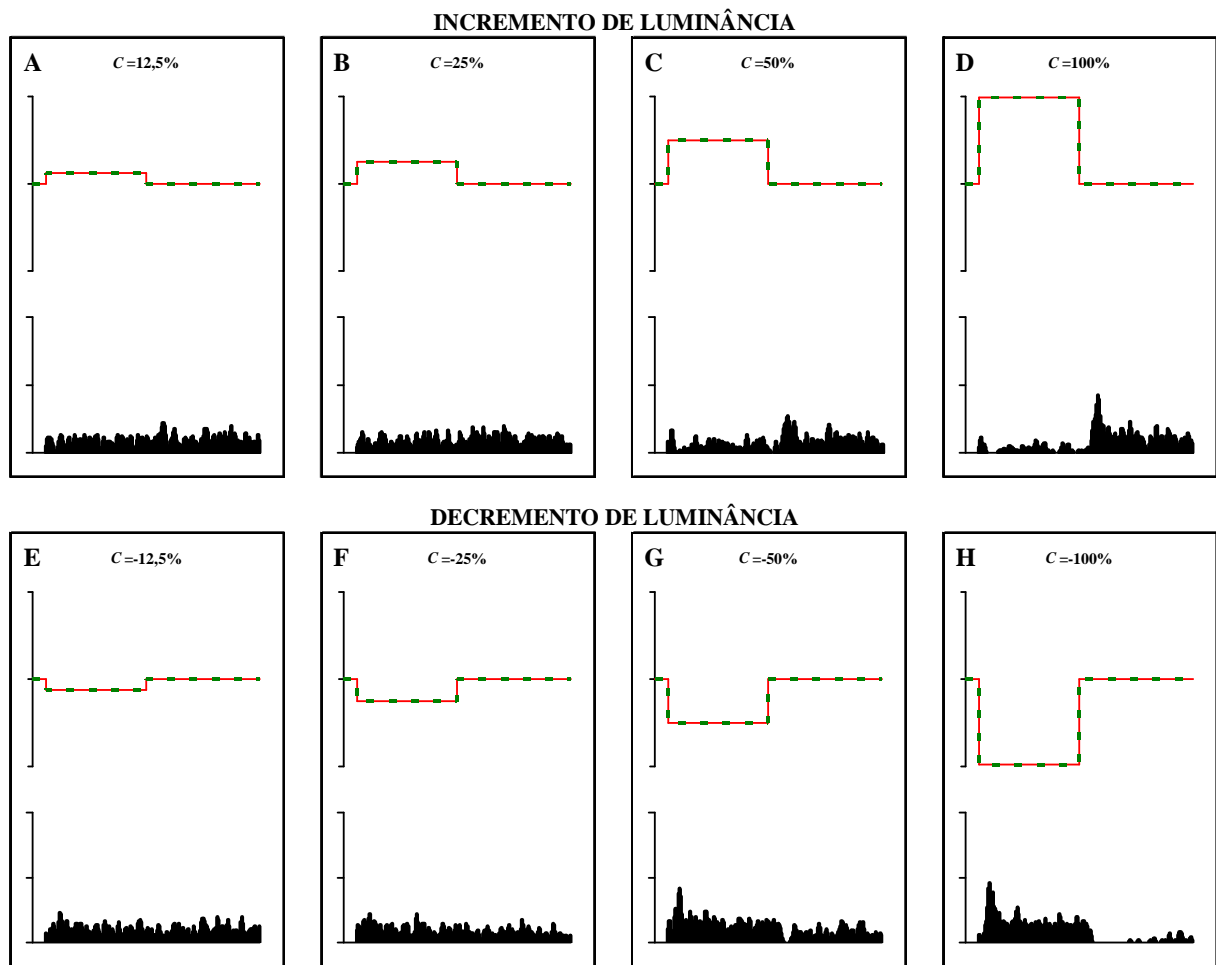


Figura 17. Célula ganglionar, classificada como tônica, do *Cebus* dicromata e sua responsividade para o protocolo de pulso de luminância. Além de uma menor sensibilidade, quando comparadas às fásicas, essas células apresentaram também uma responsividade baixa e tônica para os estímulos acromáticos. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

Célula ganglionar tônica da retina do *Cebus* dicromata

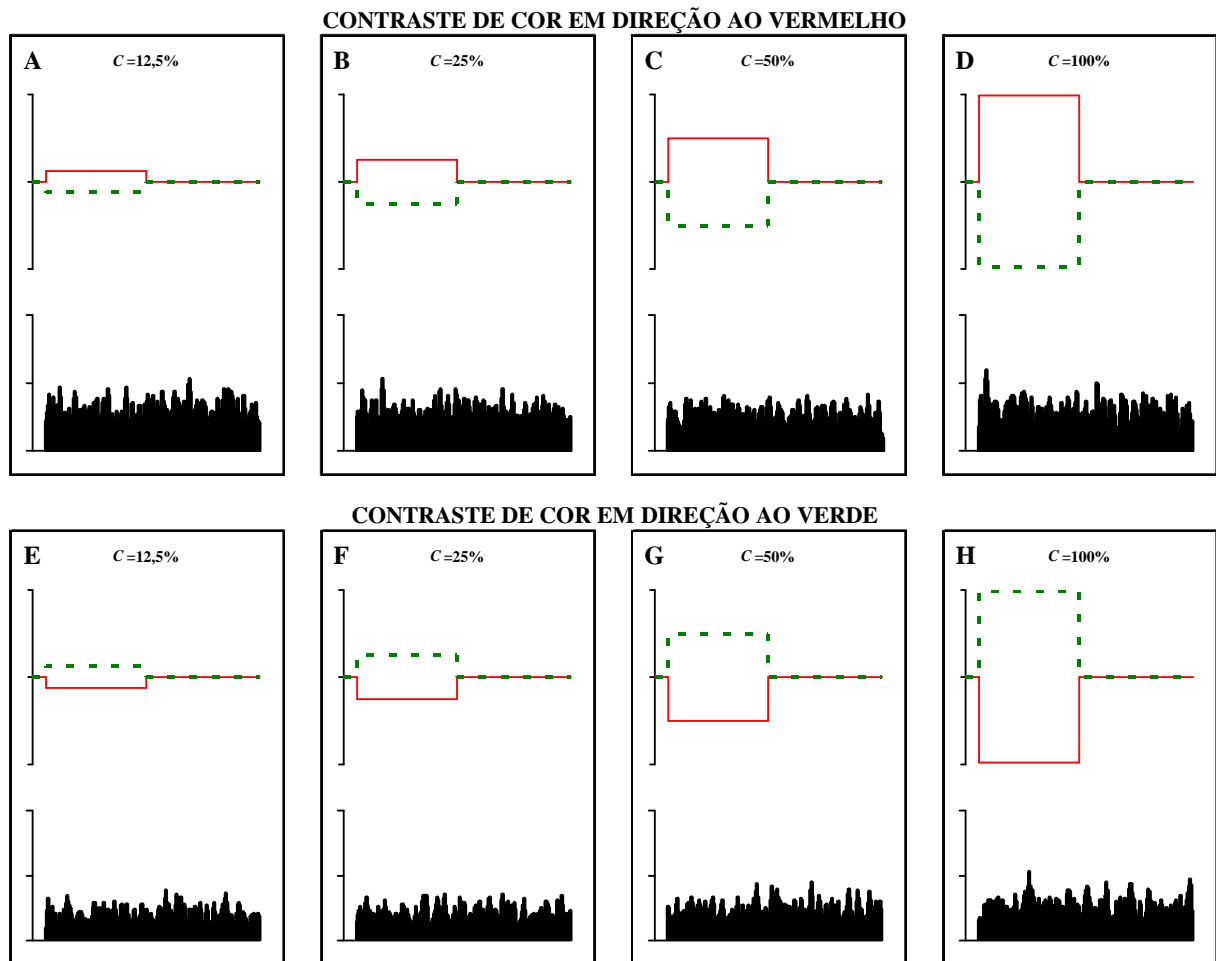


Figura 18. Célula ganglionar do *Cebus* dicromata classificada como tônica. Respostas para o protocolo de pulso temporal de cor. Essas células tônicas não apresentaram uma responsividade visível para os estímulos cromáticos. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.1.3 *Aotus infulatus*

Para o *Aotus*, as células também puderam ser classificadas eletrofisiologicamente em fásicas e tônicas, apesar de ter sido mais difícil distinguí-las com o critério que tinha sido aplicado com relativa facilidade para o *Alouatta* e para o *Cebus* dicromata. Como esperado para um animal monocromata, tanto as células fásicas quanto as tônicas não mostraram responsividade com contrastes cromáticos (não ilustrado). Todos os resultados apresentados abaixo foram obtidos com uma iluminância retiniana de 2000 Td.

3.1.3.1 Células ganglionares fásicas

Foram encontradas células ganglionares fásicas *on* e *off*. As primeiras responderam transientemente aos pulsos temporais de luminância: foram excitadas e inibidas,

respectivamente, para os contrastes positivos e negativos de luminância. A Figura 19 mostra um exemplo dessa classe celular registrada no animal Ai01 ♀. Por outro lado, as células fásicas *off* mostraram uma responsividade inversa para esse protocolo de estimulação: como esperado, foram inibidas pelo contraste positivo e excitadas pelo contraste negativo de luminância (não mostrado). De modo geral, todas as células fásicas apresentaram uma alta sensibilidade para contrastes de luminância, com respostas visíveis a partir de níveis baixos e médios de contraste em ambas as polaridades, positivas e negativas (Figura 19).

Célula ganglionar fásica *on* da retina do *Aotus*

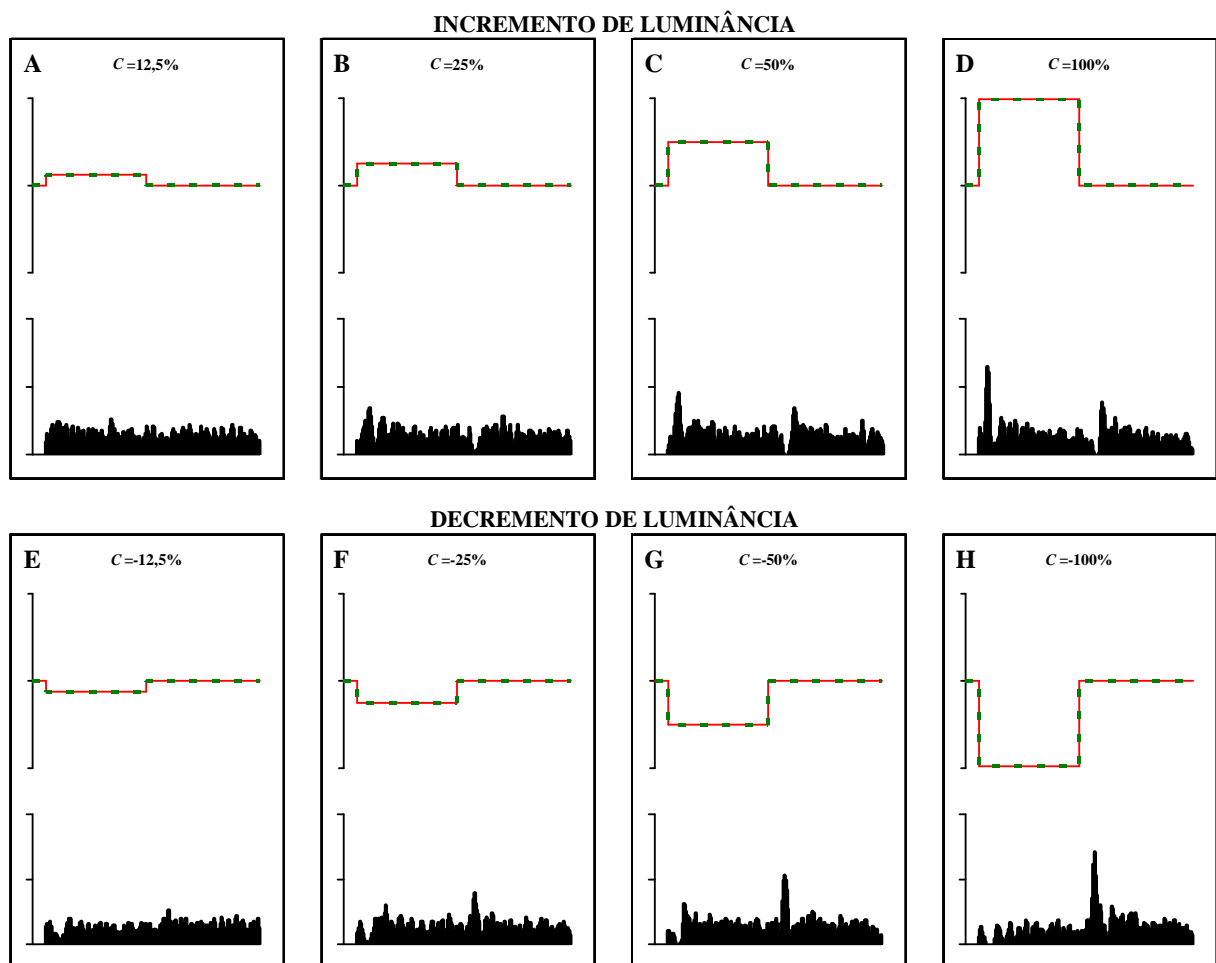


Figura 19. Respostas de uma célula ganglionar do *Aotus*, classificada como fásica *on*, para o protocolo de pulso temporal de luminância. Os contrastes positivos e negativos provocaram, de modo transitente, um maior e um menor disparo de potenciais de ação, respectivamente. Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.1.3.2 Células ganglionares tônicas

Algumas células ganglionares registradas no *Aotus* apresentaram uma resposta sustentada para os pulsos temporais de luminância, semelhante à célula mostrada na Figura 20, e foram classificadas como tônicas. Essa célula, registrada no animal Ai03♀, mostrou uma baixa sensibilidade aos estímulos acromáticos: só ocorreram respostas aparentes a partir de contrastes médios para altos.

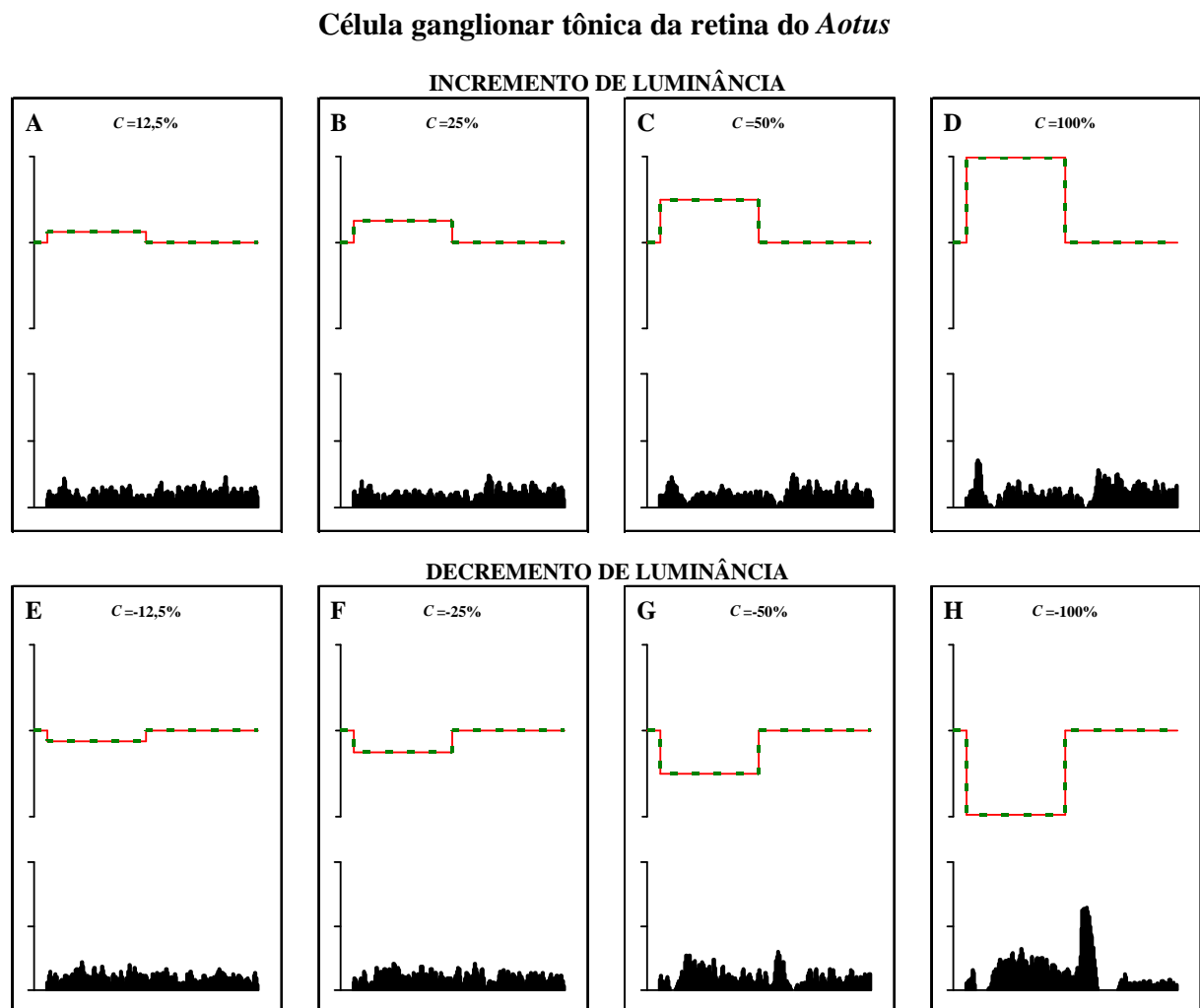


Figura 20. Respostas de uma célula ganglionar do *Aotus* para pulsos temporais de luminância. Essa célula foi classificada qualitativamente como tônica, pois respondeu de modo mais sustentado aos estímulos acromáticos do que as células fásicas (Figura 19). Ordenada do histograma: 300 imp/s.

3.2 GANHOS DE CONTRASTE DE LUMINÂNCIA E DE COR

Com o auxílio da classificação supracitada das células ganglionares, a sensibilidade temporal das classes fásicas e tônicas também foi estudada com o emprego de oscilações senoidais de luminância, ou de cor, em diferentes níveis de contraste e em diferentes frequências temporais. Inicialmente, serão mostrados alguns resultados obtidos em uma célula fásica do *Alouatta* para exemplificar a análise aplicada e a subsequente apresentação dos demais resultados nas três espécies estudadas de platirríneos. Todos os resultados apresentados abaixo foram obtidos com uma iluminância retiniana de 2000 Td.

A Figura 21 mostra um exemplo das respostas para oscilações temporais de luminância de uma célula fásica *off* do *Alouatta* Ac01♂. Essas oscilações variaram em contraste na frequência de 19,53 Hz. À medida que o contraste dos LEDs aumentou gradativamente de 3,1% para 100%, a amplitude da resposta da célula aumentou também, porém saturando em médios e altos contrastes (> 25%). Esta saturação da amplitude foi acompanhada por um avanço na fase da resposta, a qual, por sua vez, indica que a resposta foi mais rápida em médios e altos contrastes do que em baixos contrastes, após a apresentação do estímulo.

Tanto a saturação da amplitude quanto o avanço de fase podem ser observadas também na Figura 22 que mostra a amplitude e a fase do primeiro harmônico da resposta, extraídas dos histogramas da Figura 21, em função do contraste. A amplitude da resposta (Figura 22A, círculos vermelhos) aumentou com o aumento do contraste de luminância e sofreu uma saturação em contrastes altos. A linha vermelha é a função de Michaelis-Menten (Fórmula 3) ajustada aos dados amostrais com os seguintes parâmetros: $R_{\max}=69,29$ imp/s e $c_{50}=29,62\%$. O ganho de contraste da célula (Fórmula 4) nessa frequência foi de 2,34 imp/s·% e quantifica o aumento esperado da resposta em função de uma variação unitária do contraste: quanto maior esse valor, mais responsiva (ou sensível) é a célula para o contraste temporal. A fase da resposta (Figura 22B) sofreu um avanço pois passou de 16 graus para um valor máximo de 78 graus, decrescendo levemente nos contrastes acima de 25%.

A ocorrência simultânea desses dois eventos, saturação da amplitude e avanço de fase da resposta, sugere a presença de um controle de ganho de contraste na célula: uma não-linearidade na resposta que é encontrada em células fásicas do *Macaca*, especialmente em frequências temporais médias (Benardete *et al.*, 1992). Células tônicas do *Macaca* não mostram esse controle de ganho de contraste, respondendo de forma linear aos contrastes de luminância e de cor (Benardete *et al.*, 1992).

Célula ganglionar fásica *off* do *Alouatta*

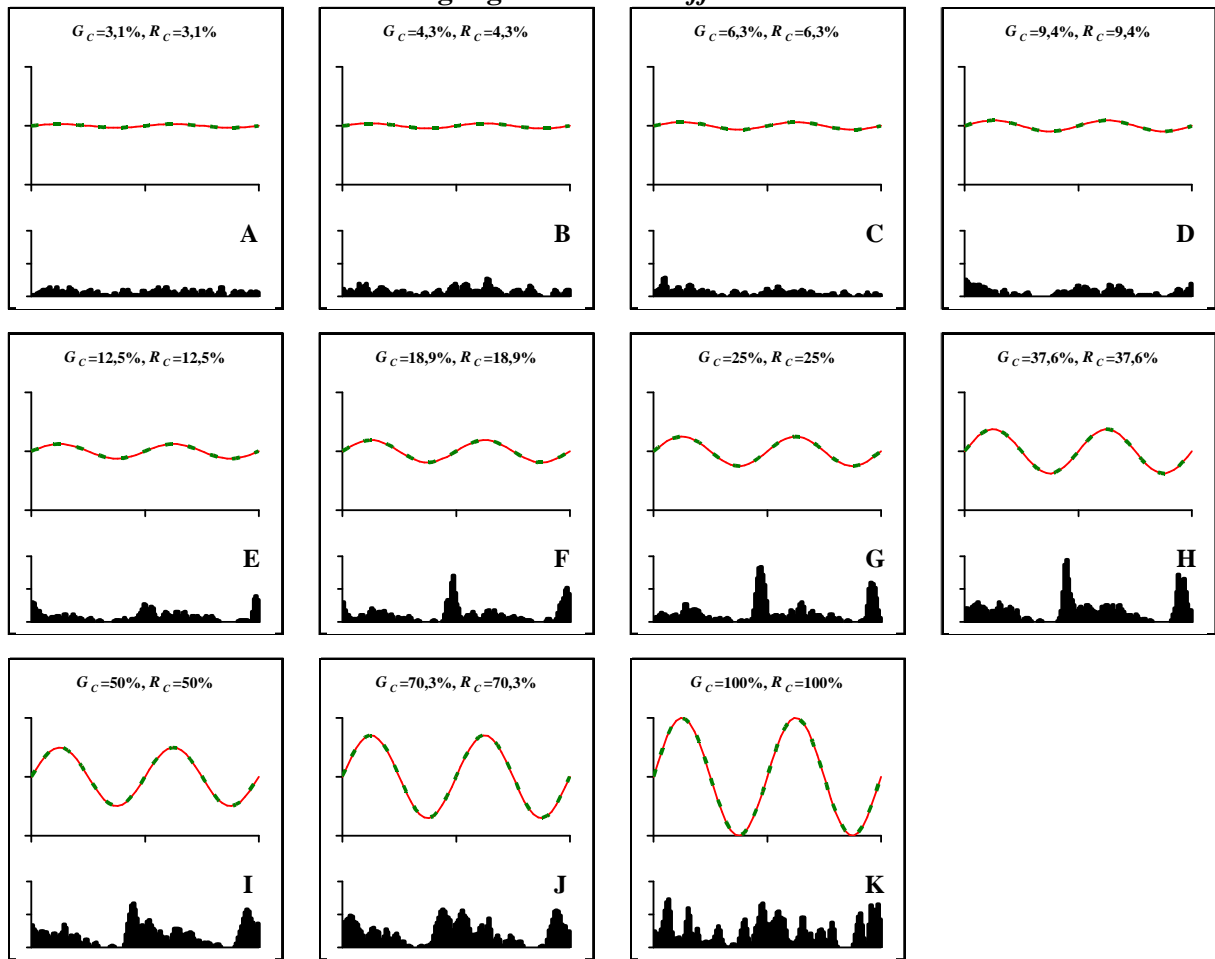


Figura 21. Histogramas das respostas para oscilações senoidais de luminância de uma célula ganglionar fásica *off* do *Alouatta*. São mostradas a estimulação senoidal de luminância (em cima) e a respectiva resposta celular (em baixo) para cada um dos contrastes desse protocolo. G_c e R_c são, respectivamente, o contraste de Michelson do LED verde e do vermelho. Frequência temporal de 19,53 Hz. Dois ciclos de estimulação. Abscissa: 0,205 s. Ordenada do histograma: 160 imp/s.

O ganho de contraste para as outras frequências temporais testadas foi calculado de modo similar e a variação desse ganho em função da frequência temporal foi adotada como a Função de Transferência de Modulação Temporal (FTMT) de luminância (Figura 22C, círculos azuis) ou de cor (não mostrado), conforme o estímulo empregado. A forma da FTMT de luminância mostra que essa célula foi mais sensível para as frequências médias do que para baixas ou altas frequências (Figura 22C). Porém, houve respostas tanto na menor (0,61 Hz) quanto na maior (78,12 Hz) frequência temporal testada.

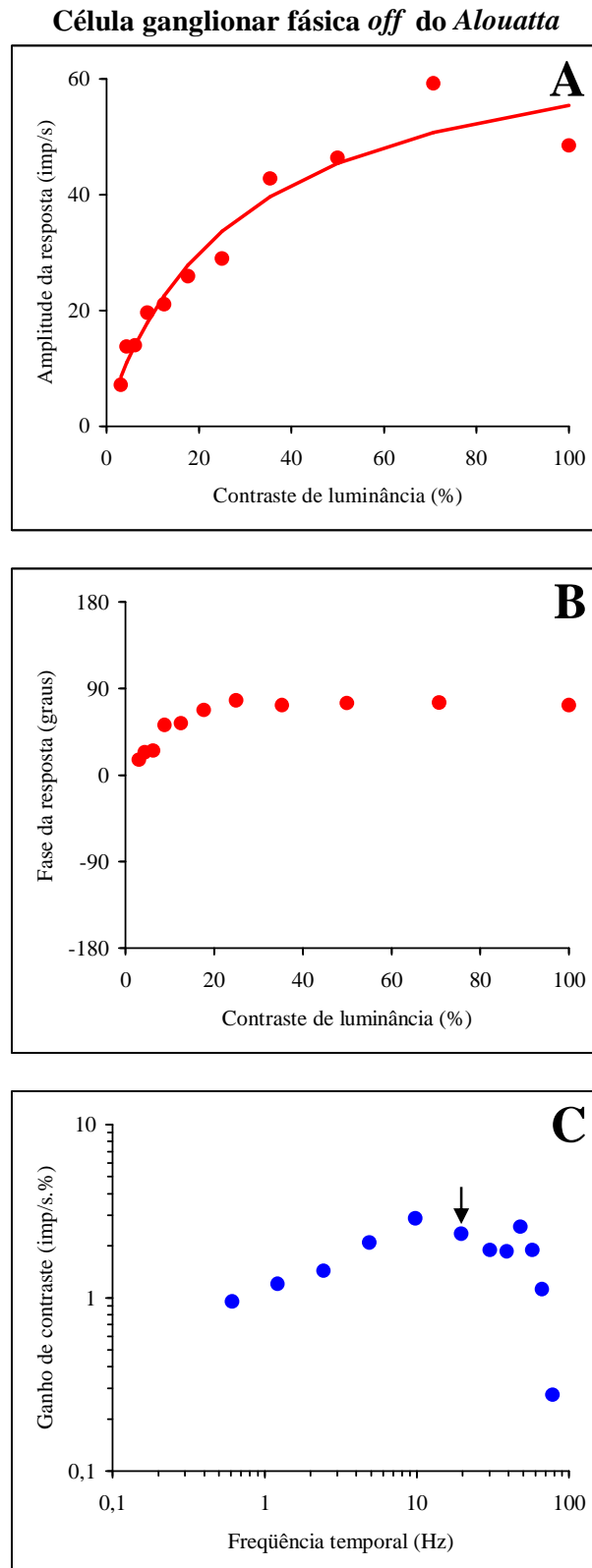


Figura 22. Amplitude (**A**) e fase (**B**) da resposta de uma célula fásica off do *Alouatta*, mostrada na Figura 21, para a frequência temporal de 19,53 Hz. A linha vermelha é o modelo de Michaelis-Menten (Fórmula 3) ajustada aos dados amostrais e usado para encontrar o ganho de contraste da célula (2,34 imp/s.%). Em **C**, a FTMT de luminância da célula obtida com os valores de ganho de contraste (círculos azuis) nas frequências temporais testadas nesse protocolo. A seta mostra o ganho de contraste na frequência de 19,53 Hz.

Os resultados obtidos são consistentes com a literatura e sugerem que as classes fásicas e tônicas apresentam uma dicotomia funcional quanto à linearidade do ganho de contraste: para estímulos de luminância, as células fásicas foram não-lineares em função do contraste e apresentaram um controle de ganho de contraste, enquanto que as células fásicas, mais lineares, não apresentaram esse controle. Além disso, as FTMTs dessas classes celulares mostram que as células fásicas são mais sensíveis para estímulos de luminância do que as tônicas. No *Alouatta*, as células tônicas foram mais sensíveis para estímulos cromáticos do que as fásicas. Seguem abaixo, exemplos dos resultados para células fásicas e tônicas do *Alouatta*, do *Cebus* dicromata e do *Aotus* com esses protocolos de estimulação.

3.2.1 *Alouatta caraya*

As respostas das células ganglionares do *Alouatta caraya* para oscilações temporais de luminância e de cor foram semelhantes àquelas previamente descritas para antropóides com três tipos de fotorreceptores cones na retina, como o *Macaca* (Lee *et al.*, 1989a, b) e o *Cebus* tricromata (Lee *et al.*, 2000). As células fásicas não foram testadas com a FTMT de cor.

3.2.1.1 Células ganglionares fásicas

A Figura 23 mostra uma outra célula fásica do animal Ac01♂ para o protocolo de FTMT de luminância. Essa célula também apresentou, em frequências temporais médias, uma maior responsividade e uma saturação da amplitude (Figura 23A, círculos vermelhos) e foi menos responsiva para frequências temporais baixas e altas (Figura 23A, círculos pretos e cinzas, respectivamente). Quando não houve amplitude de resposta visível nos contrastes mais baixos testados, a resposta foi descartada. Na frequência temporal de 19,53 Hz, houve um avanço na fase da resposta (Figura 23B, círculos vermelhos); nas outras duas frequências temporais mostradas (Figura 23B, círculos pretos e cinzas), a fase sofreu pouca variação. Os parâmetros livres das funções ajustadas às amplitudes (Figura 23A, linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude) foram: $R_{\max}=50,08$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (0,61 Hz); $R_{\max}=140,86$ imp/s e $c_{50}=44,89\%$ (19,53 Hz); e $R_{\max}=57,9$ imp/s e $c_{50}=71,92\%$ (66,66 Hz) e os ganhos de contraste: 0,50 imp/s·% (0,61 Hz); 3,14 imp/s·% (19,53 Hz); e 0,81 imp/s·% (66,66 Hz). A Figura 23C mostra a FTMT de luminância, cuja forma foi bastante semelhante àquela apresentada anteriormente (Figura 22C), e mostra que houve respostas ao longo de todo o intervalo de frequência temporal usado, inclusive na frequência máxima de 72 Hz. Essa frequência foi adotada como a Frequência Crítica de Fusão (FCF) da célula.

Célula ganglionar fásica off do *Alouatta*

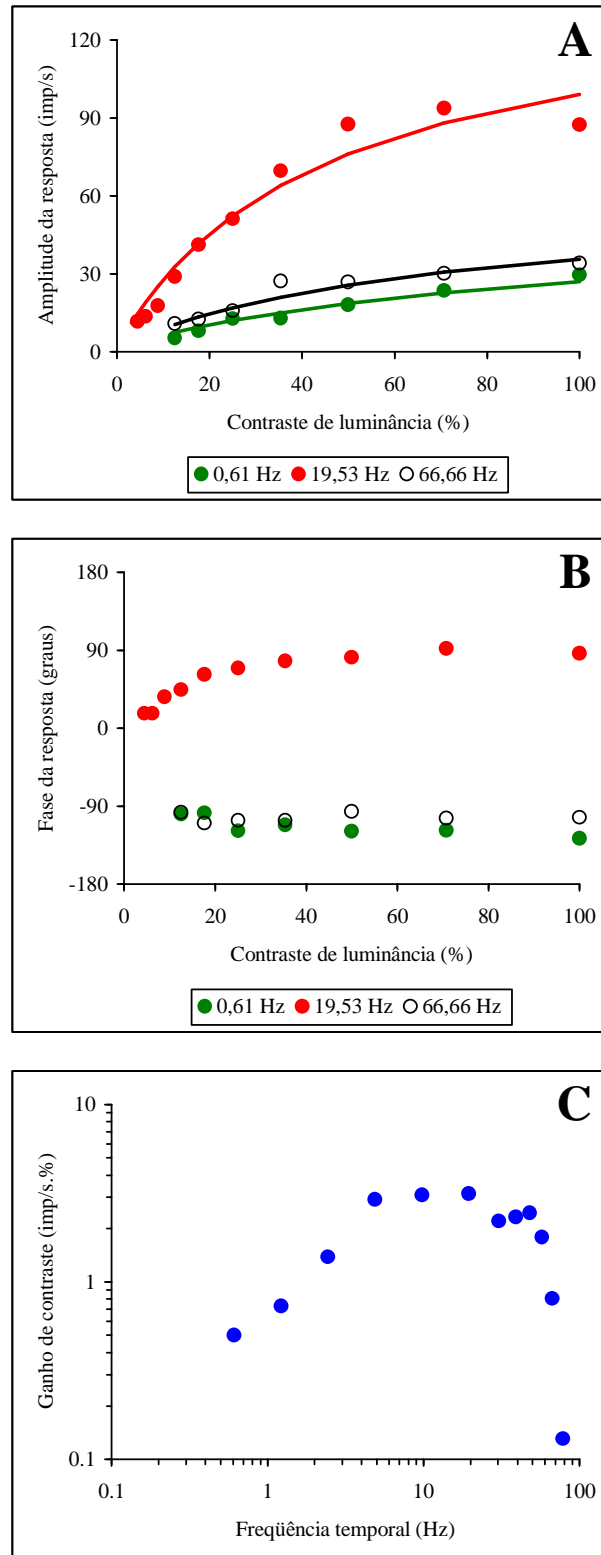


Figura 23. Amplitude (A) e fase (B) das respostas de uma célula fásica off do *Alouatta* para três frequências temporais do protocolo de FTMT de luminância. Em C, a FTMT de luminância da célula. Mais detalhes no texto.

3.2.1.2 Células ganglionares tônicas

A célula tônica mostrada acima, nas Figuras 13 e 14, também foi registrada em ambos os protocolos de FTMT de luminância (Figura 24) e de cor (Figura 25). Os resultados para estímulos acromáticos mostram que as células tônicas do *Alouatta* foram menos responsivas do que as células fásicas: a amplitude da resposta em todas as frequências temporais testadas foi menor que 20 imp/s e ausente em contrastes abaixo de 25%. De um modo geral, a relação sinal-ruído do registro foi baixo, o que explica uma maior dispersão da amplitude (Figura 24A). Por sua vez, a fase sofreu algumas variações porém sem indícios da ocorrência de um avanço de fase (Figura 24B). Os parâmetros livres dos modelos ajustados as respostas (Figura 24A, linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude) foram: $R_{\max}=21,09$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (2,44 Hz); $R_{\max}=15,72$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (19,53 Hz); e $R_{\max}=13,89$ imp/s e $c_{50}=71,92\%$ (48,07 Hz). De posse desses valores, os ganhos de contraste calculados foram: 0,21 imp/s·% (2,44 Hz); 0,16 imp/s·% (19,53 Hz); e 0,14 imp/s·% (48,07 Hz). A FTMT de luminância (Figura 24C) mostra que a célula tônica teve um menor ganho de contraste em todo o intervalo de frequência temporal estudado, quando comparada com a célula fásica do *Alouatta*. A FCF dessa célula foi 48,07 Hz, pois, de fato, não houve resposta para frequências temporais superiores; a resposta em 0,61 Hz foi desprezível (Figura 24C).

Por outro lado, sob estimulação cromática, a célula tônica respondeu vigorosamente, com amplitudes superiores a 100 imp/s na frequência temporal de 9,76 Hz (Figura 25A). Apesar do decaimento da amplitude em frequências temporais menores e maiores que 9,76 Hz, mesmo nessas condições os valores obtidos para estímulos cromáticos de alto contraste foram superiores do que aqueles obtidos com estímulos de luminância. Houve indícios de saturação na amplitude para os registros obtidos em 9,76 Hz, porém não houve um avanço de fase correspondente (Figura 25B). Os parâmetros livres das equações ajustadas as respostas (Figura 25A, linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude) foram: $R_{\max}=99,60$ imp/s e $c_{50}=32,40\%$ (1,22 Hz); $R_{\max}=189,79$ imp/s e $c_{50}=58,27\%$ (9,76 Hz); e $R_{\max}=40,18$ imp/s e $c_{50}=71,70\%$ (39,06 Hz). Os ganhos de contraste calculados foram: 3,07 imp/s·% (1,22 Hz); 3,26 imp/s·% (9,76 Hz); e 0,56 imp/s·% (39,06 Hz). A célula tônica apresentou uma FTMT de cor (Figura 25C) com ganhos de contraste superiores que a FTMT de luminância (Figura 25B) para a grande maioria das frequências temporais, exceto em oscilações cromáticas de 48,07 Hz (FCF), a partir da qual não houve resposta mensurável. Por outro lado, a célula respondeu aos estímulos cromáticos na menor frequência temporal testada, 0,61 Hz (Figura 25C).

Célula ganglionar tônica *M+L* - do *Alouatta*

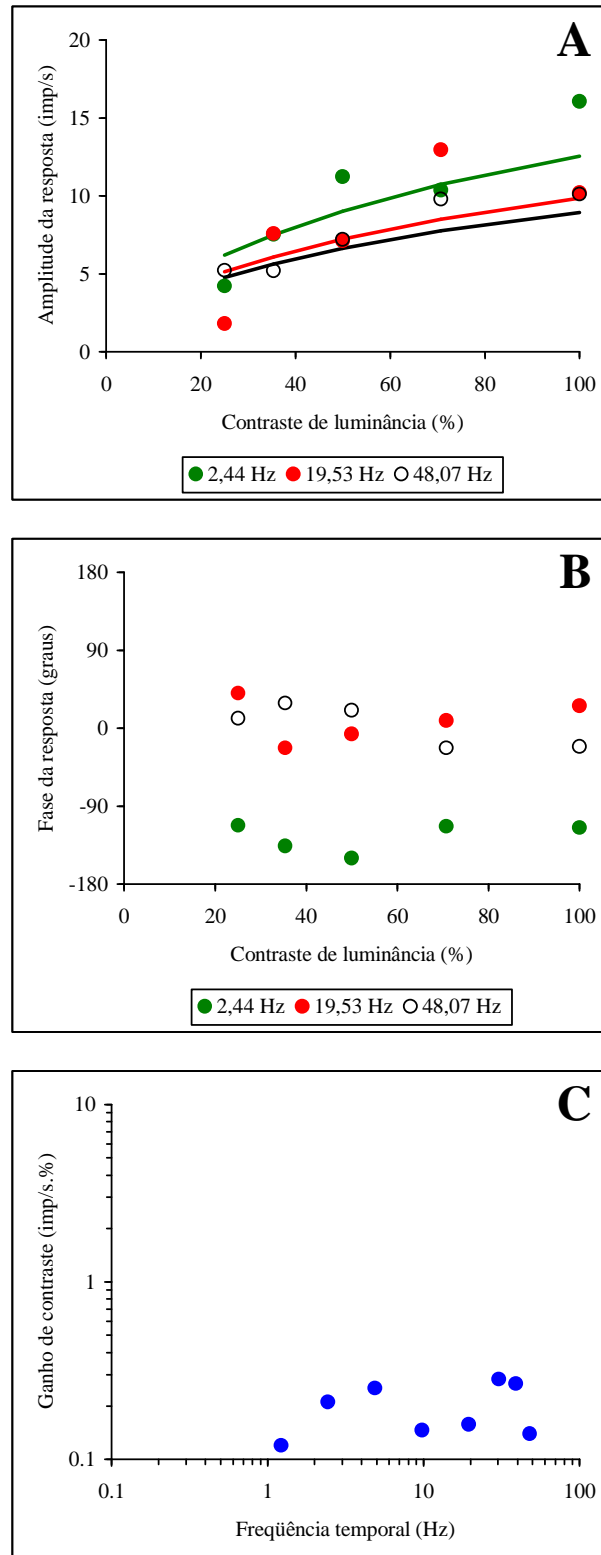


Figura 24. Amplitude (A) e fase (B) das respostas de uma célula tônica do *Alouatta* para três frequências temporais do protocolo de FTMT de luminância. Em C, a FTMT de luminância da célula. Mais detalhes no texto.

Célula ganglionar tônica *M+L* - do *Alouatta*

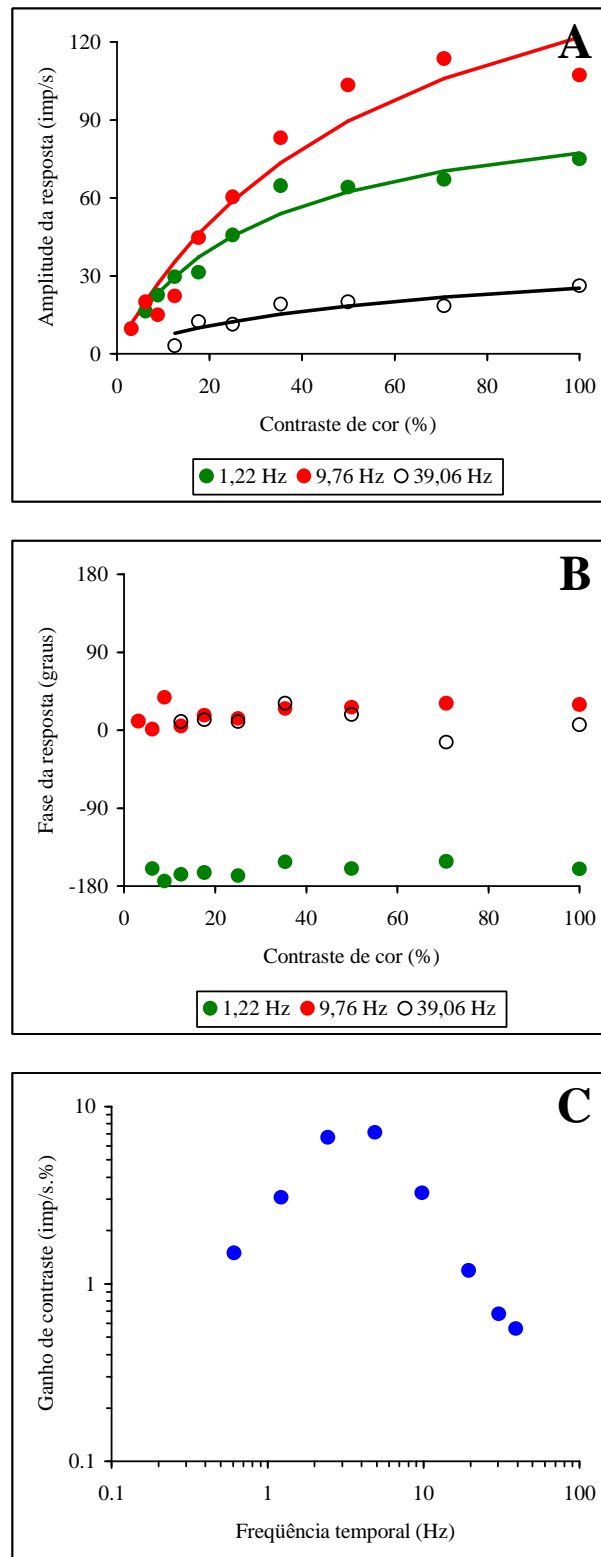


Figura 25. Amplitude (**A**) e fase (**B**) das respostas de uma célula tônica do *Alouatta* para o protocolo de FTMT de cor. Três frequências temporais são ilustradas. Em **C**, a FTMT de cor da célula. Mais detalhes no texto.

3.2.2 *Cebus apella*

As respostas das classes de células ganglionares fásicas e tônicas do *Cebus apella* dicromata foram estudadas para oscilações temporais de luminância e responderam de modo similar aos resultados publicados na literatura (Lee *et al.*, 2000). Como esperado para um animal dicromata, as FTMTs de cor para ambas as classes celulares foram desprezíveis (não ilustrado).

3.2.2.1 Células ganglionares fásicas

A Figura 26 mostra a resposta de uma célula fásica do *Cebus* dicromata Ca02♂ para o protocolo da FTMT de luminância. Em frequências temporais médias (19,53 Hz), a célula respondeu com uma maior amplitude, saturando em altos contrastes (Figura 26A, círculos vermelhos) e nas frequências temporais baixas e altas a sua resposta diminuiu (Figura 26A, círculos pretos e cinzas, respectivamente). Além da saturação na amplitude da resposta, na frequência temporal de 19,53 Hz também houve, de modo simultâneo, um avanço na fase da resposta (Figura 26B, círculos vermelhos); por outro lado, a fase ficou quase constante em função do contraste nas outras duas frequências temporais mostradas (Figura 26B, círculos pretos e cinzas).

As funções de Michaelis-Menten (Figura 26A, linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude) foram ajustadas aos valores de amplitude com os seguintes parâmetros: $R_{\max}=87,26$ imp/s e $c_{50}=83,59\%$ (0,61 Hz); $R_{\max}=101,20$ imp/s e $c_{50}=22,82\%$ (19,53 Hz); e $R_{\max}=93,82$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (57,47 Hz). Os respectivos ganhos de contraste foram: 1,04 imp/s·% (0,61 Hz); 4,34 imp/s·% (19,53 Hz); e 0,94 imp/s·% (57,47 Hz). A FTMT de luminância dessa célula (Figura 26C) foi similar àquela observada nas células fásicas do *Aloutta*, com uma maior responsividade em frequências temporais médias, e um posterior decaimento de sensibilidade à medida que a frequência temporal de estimulação foi diminuída ou aumentada. Essa célula respondeu à modulações de luminância até a FCF de 66,66 Hz (não ilustrado).

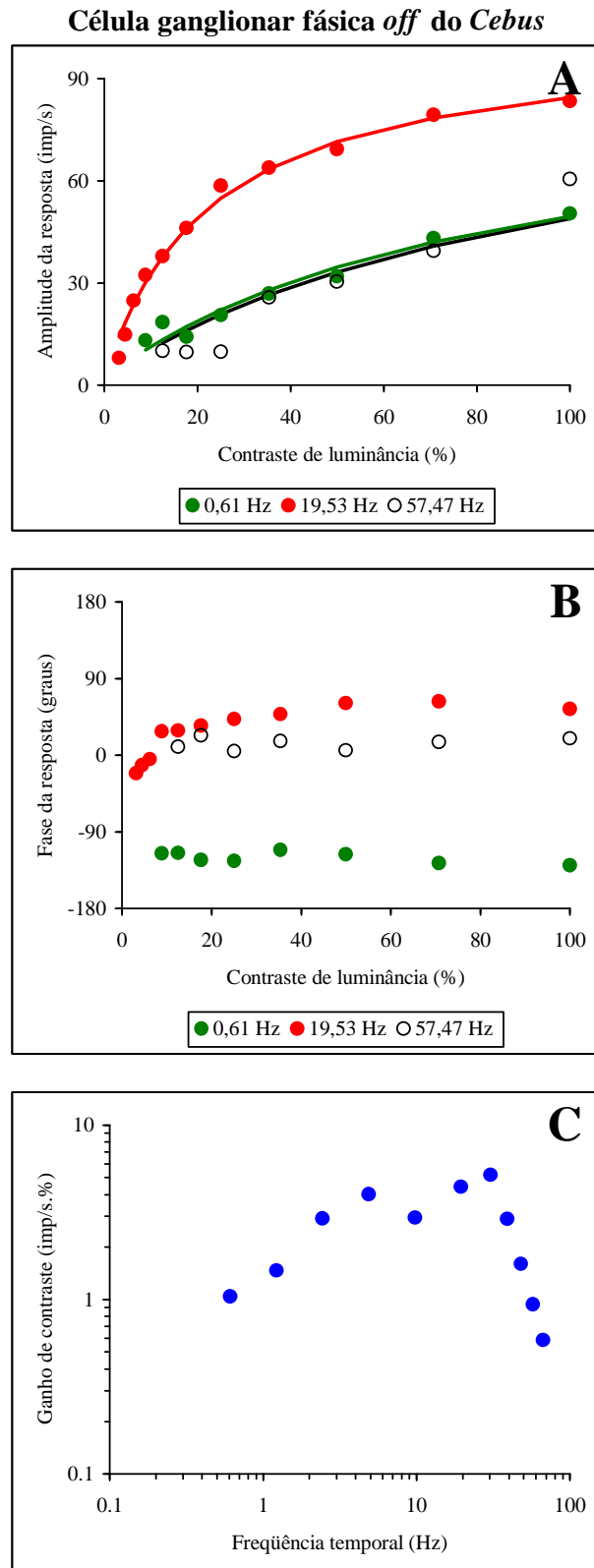


Figura 26. Amplitude (A) e fase (B) das respostas de uma célula fásica *off* do *Cebus* dicromata. Três frequências temporais do protocolo de FTMT de luminância são mostradas. Em C, a FTMT de luminância da célula. Mais detalhes no texto.

3.2.2.2 Células ganglionares tônicas

Células tônicas desse mesmo *Cebus* também foram registradas para o protocolo de FTMT de luminância e uma célula representativa dessa amostra é apresentada na Figura 27. No *Cebus*, as células tônicas foram menos responsivas do que as células fásicas para a estimulação de luminância, sem respostas visíveis nos contrastes mais baixos testados, resultado semelhante ao do *Alouatta* (Figura 27A). Não houve grandes mudanças na fase da resposta em função do contraste em nenhuma frequência temporal testada, como aquelas presentes nas células fásicas (Figura 27B). Também na Figura 24A estão mostradas as funções ajustadas aos valores de amplitude (linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude), cujos parâmetros livres foram: $R_{\max}=45,20$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (2,44 Hz); $R_{\max}=100,11$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (19,53 Hz); e $R_{\max}=50,00$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (48,07 Hz). Os ganhos de contraste obtidos nessas três frequências temporais foram: 0,45 imp/s·% (2,44 Hz); 1,00 imp/s·% (19,53 Hz); e 0,50 imp/s·% (48,07 Hz). A Figura 27C mostra a FTMT de luminância da célula. É visível que a célula tônica teve uma menor sensibilidade ao longo das frequências temporais quando comparada com a célula fásica. Além disso, a maior frequência temporal na qual a célula respondeu (FCF=57,47 Hz) foi menor do que aquela observada nas células fásicas, tanto do *Cebus* quanto do *Alouatta*.

Célula ganglionar tônica do *Cebus*

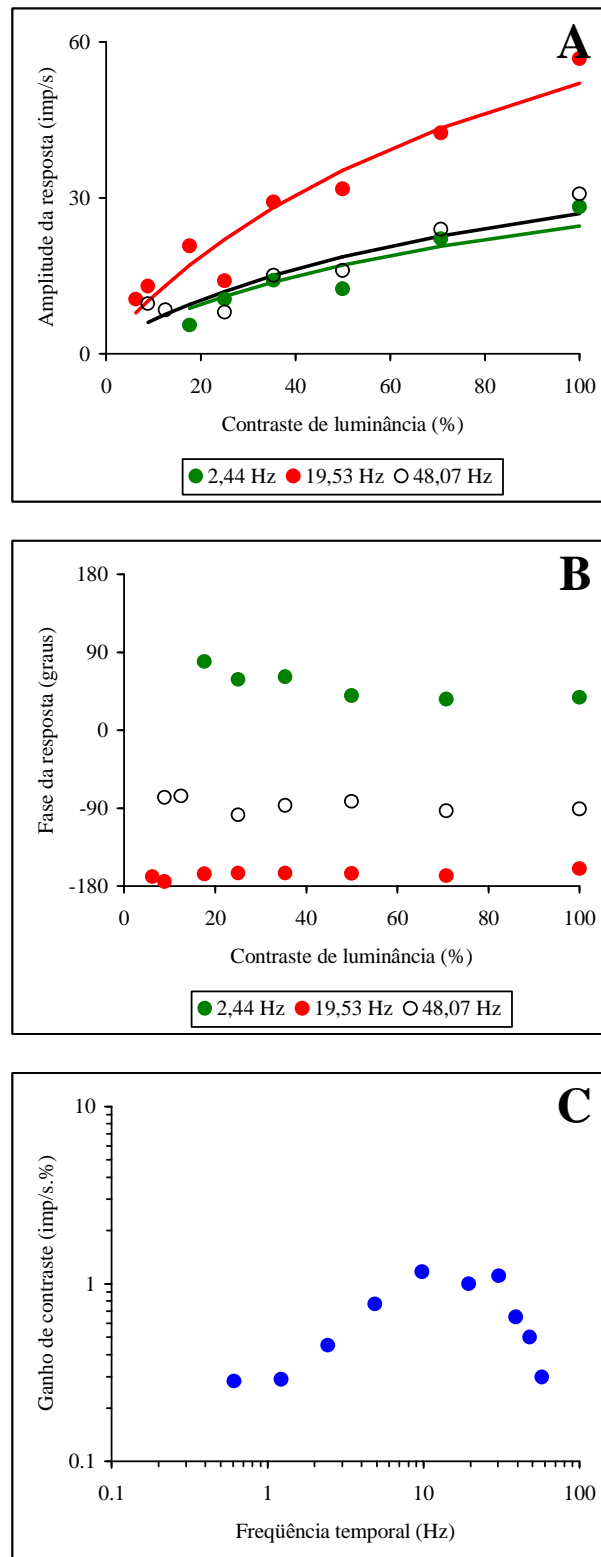


Figura 27. Amplitude (A) e fase (B) das respostas à estímulos acromáticos de uma célula tônica do *Cebus* dicromata. Três frequências temporais são ilustradas para o protocolo de FTMT de luminância. Em C, a FTMT de luminância obtida. Mais detalhes no texto.

3.2.3 *Aotus infulatus*

De modo similar às células ganglionares do *Alouatta* e do *Cebus*, as respostas das classes fásicas e tônicas do *Aotus* também apresentaram uma dicotomia quanto às propriedades temporais estudadas com a FTMT de luminância: as células fásicas foram mais sensíveis do que as tônicas para esse protocolo de estimulação. Como o *Aotus* é um animal monocromata, suas células não foram submetidas à FTMT de cor.

3.2.3.1 Células ganglionares fásicas

O resultado de uma célula fásica do *Aotus* Ai02♂ para o protocolo da FTMT de luminância é mostrado na Figura 28. A célula respondeu com uma maior amplitude à medida que o contraste aumentou, porém houve uma saturação da amplitude em altos contrastes nas frequências temporais médias (Figura 28A, círculos vermelhos). Nas frequências temporais baixas e altas houve uma redução da resposta (Figura 26A, círculos pretos e cinzas, respectivamente) sem a presença de saturação. Também houve, de modo simultâneo à saturação da amplitude, um avanço na fase da resposta (Figura 26B, círculos vermelhos) na frequência temporal de 9,76 Hz. Em 1,22 Hz a fase sofreu também um avanço (Figura 26B, círculos pretos) enquanto que em 39,06 Hz esse fenômeno não foi observado.

Na Figura 28A, também são mostradas as funções de Michaelis-Menten ajustadas para a amplitude da resposta (linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude), as quais tiveram os seguintes parâmetros: $R_{\max}=24,88$ imp/s e $c_{50}=16,23\%$ (1,22 Hz); $R_{\max}=148,15$ imp/s e $c_{50}=21,71\%$ (9,76 Hz); e $R_{\max}=16,45$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (39,06 Hz). Os ganhos de contraste nessas frequências temporais foram: 1,53 imp/s·% (1,22 Hz); 6,83 imp/s·% (9,76 Hz); e 0,16 imp/s·% (39,06 Hz). A Figura 28C mostra a FTMT de luminância dessa célula; houve uma maior responsividade em frequências temporais médias, com uma subsequente queda em frequências menores e maiores. A maior frequência temporal testada em que houve resposta visível dessa célula foi a de 39,06 Hz (FCF).

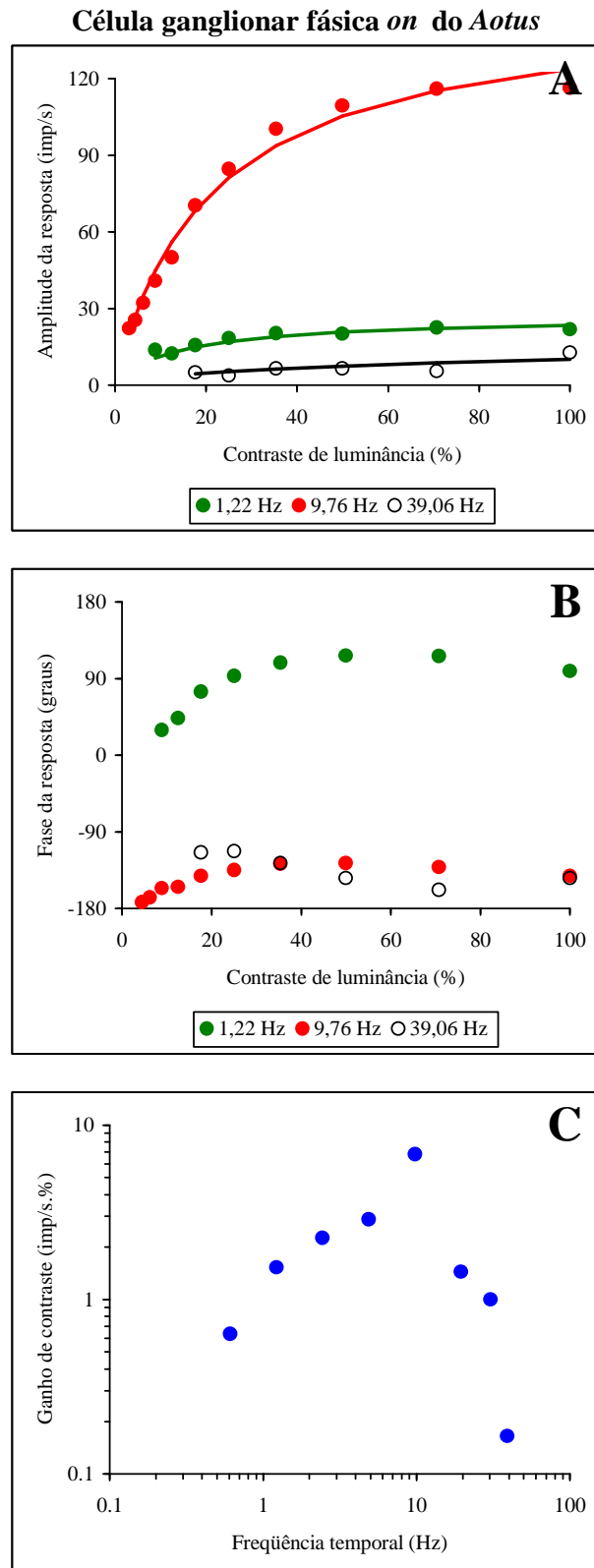


Figura 28. Célula fásica on do *Aotus*. Amplitude (A) e fase (B) das respostas para o protocolo de FTMT de luminância. Em C, a FTMT de luminância da célula. Mais detalhes no texto.

3.2.3.2 Células ganglionares tônicas

O resultado de uma célula tônica desse mesmo *Aotus* é mostrado na Figura 29 para o protocolo de FTMT de luminância. De modo similar aos resultados reportados nos outros platirríneos, no *Aotus* as células tônicas foram menos responsivas para esses estímulos acromáticos (Figura 29A), sem presença de resposta nos contrastes mais baixos testados. Além disso, a fase da resposta não mudou de forma consistente com o contraste (Figura 29B). Os parâmetros livres das funções ajustadas aos valores de amplitude (Figura 29A, linhas com o mesmo código de cor usado para a amplitude) foram: $R_{\max}=26,98$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (0,61 Hz); $R_{\max}=112,86$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (4,88 Hz); e $R_{\max}=49,43$ imp/s e $c_{50}=100\%$ (19,53 Hz). Os ganhos de contraste, nessas três frequências temporais, foram: 0,27 imp/s·% (0,61 Hz); 1,13 imp/s·% (4,88 Hz); e 0,49 imp/s·% (19,53 Hz) e estão mostrados na Figura 27C, junto com os outros valores obtidos, em função da frequência temporal. A célula tônica do *Aotus* teve um menor ganho de contraste, quando comparada com a célula fásica, em todas as frequências. Essa célula tônica mostrou um baixo valor da FCC (30,3 Hz) quando comparada tanto com as células fásicas quanto as tônicas dos outros platirríneos.

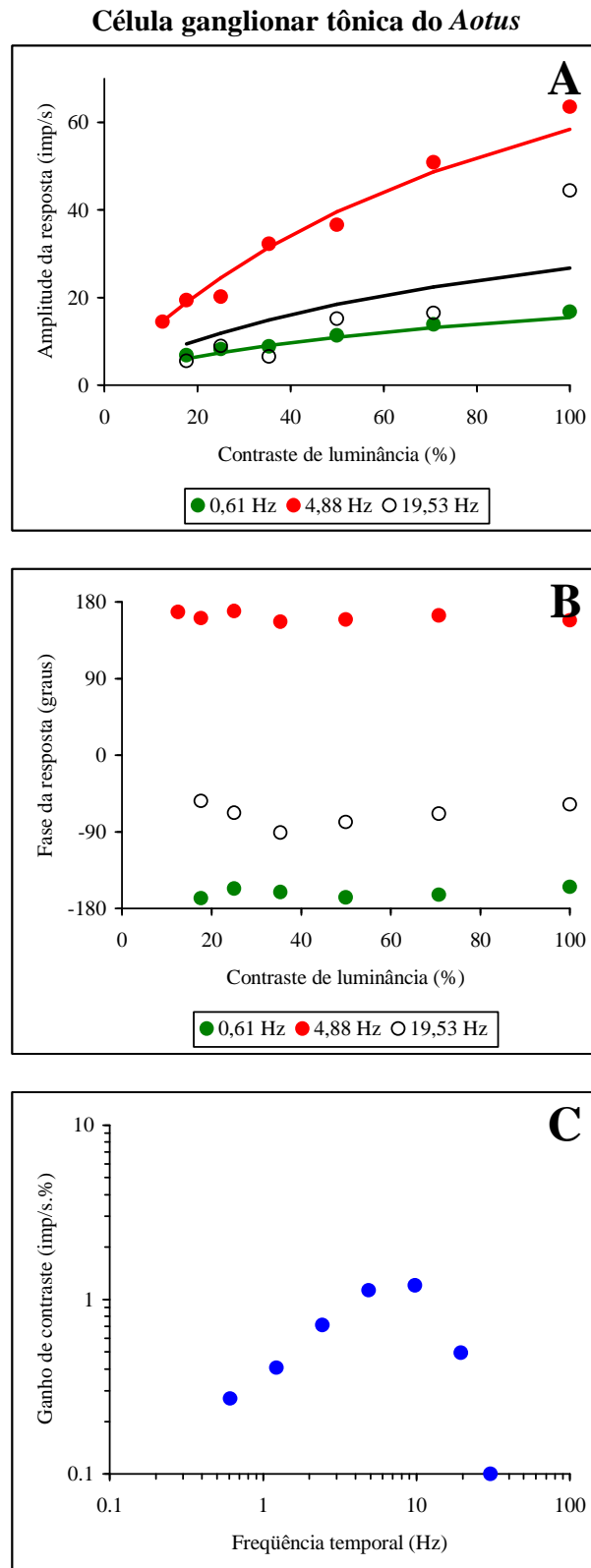


Figura 29. Amplitude (A) e fase (B) das respostas à estímulos acromáticos de uma célula tônica do *Aotus*. Protocolo de FTMT de luminância. Três frequências temporais são mostradas. Em C, a FTMT de luminância obtida. Mais detalhes no texto.

3.3 RESPONSABILIDADE PARA A FOTOMETRIA COM *FLICKER* HETEROCROMÁTICO

3.3.1 *Alouatta caraya*

Consistentemente com os achados eletrorretinográficos feitos por Jacobs e colaboradores (Jacobs *et al.*, 1996a), os registros unitários das células ganglionares do *Alouatta* corroboraram a hipótese de que os indivíduos machos dessa espécie de platirríneo diurno possuem uma visão tricromática semelhante àquela presente em catarríneos. Mais especificamente, foram encontradas células tônicas que responderam às condições de maior oponência de cor do protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Por outro lado, as células fásicas do *Alouatta* mostraram uma sensibilidade principalmente para estímulos acromáticos.

3.3.1.1 Células ganglionares fásicas

As respostas de uma célula fásica do *Alouatta caraya* Ac01♂ para a fotometria com *flicker* heterocromático são mostradas na Figura 30. O contraste máximo de Michelson dos LEDs foi 100%, e a modulação foi feita em uma frequência temporal de 19,53 Hz. As células fásicas responderam com uma alta amplitude especialmente nas condições iniciais de estimulação, nas quais contraste do LED verde (G_c) foi predominante no estímulo sobre o contraste do LED vermelho (R_c) (Figura 30A-D). A partir da condição 30E, com a progressiva diminuição do contraste do LED verde, a resposta da célula decresceu até alcançar um valor mínimo, na condição em que o contraste do LED vermelho foi cerca de 2,5 maior do que o LED verde (Figura 30P). Nas quatro condições restantes, a célula voltou a apresentar uma pequena resposta, porém não mais provocada pelo LED verde e sim pelo LED vermelho.

Para cada um dos histogramas da Figura 30, a amplitude, em imp/s, e a fase, em graus, do primeiro harmônico das respostas foram calculados e colocados em função da razão entre os contrastes dos LEDs, em cada uma das quatro frequências temporais testadas. Os resultados estão mostrados na Figura 31. Os gráficos da esquerda são a amplitude e os gráficos da direita são a fase da resposta para uma determinada frequência temporal de estimulação (de cima para baixo: 4,88 Hz, 9,76 Hz, 19,53 Hz e 39,06 Hz). Os pontos vermelhos em cada gráfico são os valores de amplitude ou de fase da resposta.

A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal até 19,53 Hz. Em 39,06 Hz, houve uma ligeira queda na amplitude da resposta, mostrando uma perda de sensibilidade desta célula em frequências temporais altas (> 30 Hz). Na razão entre os LEDs de aproximadamente 2,5 para todas as frequências temporais, a resposta da célula foi

mínima. Também houve uma mudança abrupta de aproximadamente 180° na fase da resposta, consistente com a mudança de sensibilidade da célula que, a partir dessa razão entre os LEDs, começou a ser mais estimulada pelo LED vermelho do que pelo LED verde.

O modelo matemático (Equações 10 e 11) ajustado aos dados amostrais está representado nos gráficos da Figura 31 pela linha azul, superposto aos valores de amplitude e de fase, em cada frequência temporal. Esse modelo prevê uma contribuição linear e ponderada de dois diferentes fotorreceptores para a resposta da célula ganglionar. No caso do *Alouatta*, foi considerado que as células recebem uma maior contribuição dos cones M, com λ_{max} de 530 nm (o fotorreceptor f das equações), e dos cones L, com λ_{max} de 562 nm (o fotorreceptor g das equações). Os valores dos parâmetros livres obtidos para esse modelo estão localizados nas tabelas da Figura 31. A amplitude e a fase da contribuição do fotorreceptor M para a resposta são, respectivamente, os parâmetros G_a e G_θ ; para o fotorreceptor L são, respectivamente, R_a e R_θ . De um modo geral, a resposta celular foi satisfatoriamente modelada, desde que fosse usado ambos os fotorreceptores M e L, e que fosse ignorada possíveis contribuições dos bastonetes na resposta. Somente quando essas duas pressuposições foram adotadas, o modelo ajustou-se aos dados com um menor erro (SQD , soma dos quadrados das diferenças entre o modelo e os dados amostrais). Então, para o *Alouatta*, W é uma variável adimensional que quantifica a contribuição dos fotorreceptores M e L para a resposta da célula; quanto mais próximo de 1, maior a contribuição do cone M e quanto mais próximo de 0, maior a contribuição do cone L.

Essa célula foi mais dominada pelo cone M em todas as frequências. Para 39,06 Hz houve uma leve queda de amplitude em ambas as contribuições dos fotorreceptores. Não houve uma tendência clara para o valor de W aumentar ou diminuir com o aumento da frequência temporal.

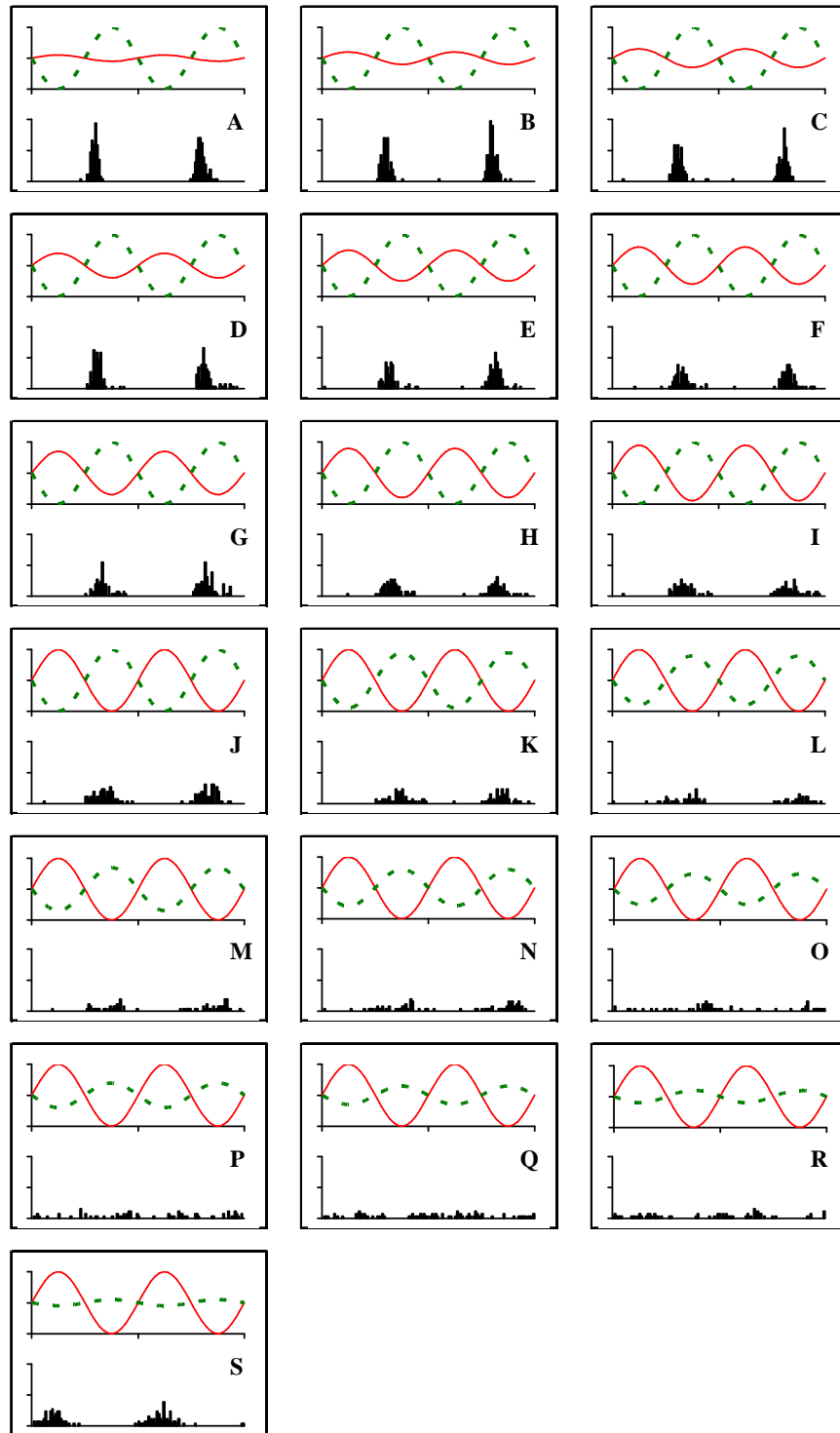


Figura 30. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *off* de *Alouatta*. Protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Essa célula foi dominada pelo cone M ao longo da maioria das proporções entre os contrastes dos LEDs. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 250 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

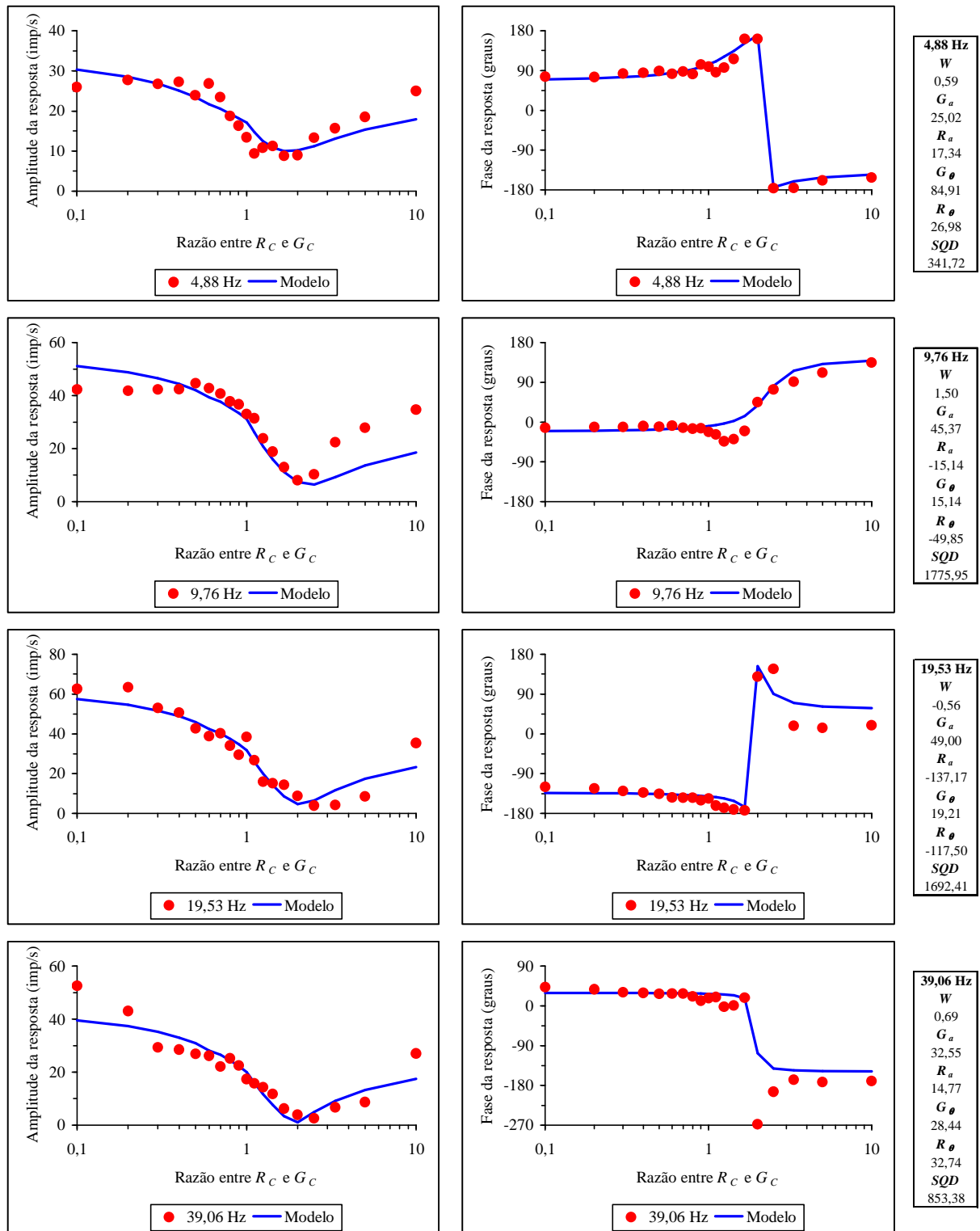


Figura 31. Amplitude (à esquerda) e fase (à direita) das respostas de uma célula fásica *off* de *Alouatta*. Protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Valores obtidos dos histogramas da figura anterior, sob estimulação em quatro frequências temporais diferentes. A linha azul é o modelo matemático ajustado à resposta celular em cada frequência. Os parâmetros livres dos modelos estão discriminados à direita dos gráficos de fase.

3.3.1.2 Células ganglionares tônicas

A Figura 32 mostra os registros de uma célula tônica do *Alouatta* Ac01♂ obtidos com a fotometria com *flicker* heterocromático. O contraste máximo de Michelson dos LEDs foi 100%, e a modulação foi feita em uma frequência temporal de 9,76 Hz. De modo diferente das células fásicas, as células tônicas responderam com uma maior amplitude nas condições em que os contrastes dos LEDs estavam próximos (Figura 32G-K) enquanto foram menos responsivas para os estímulos iniciais e finais desse protocolo. Como os LEDs são modulados em oposição de fase, quando os contrastes dos mesmos estão próximos existe um maior contraste de cor do que de luminância, e vice-versa. Então as células tônicas do *Alouatta*, como a ilustrada na Figura 32, foram mais responsivas para estímulos cromáticos do que os de luminância.

A amplitude e a fase das respostas foram extraídas e são mostradas em função da razão entre os contrastes dos LEDs, para cada uma das frequências temporais testadas, na Figura 33. As células tônicas apresentaram uma maior amplitude de resposta nas frequências temporais abaixo de 19,53 Hz; mas quando comparadas com as células fásicas, os valores máximos de amplitude dessas últimas foram maiores. Então, a partir da frequência de 19,53 Hz a resposta diminuiu de amplitude e foi praticamente ausente em 39,06 Hz. Não houve uma razão entre os contrastes dos LEDs na qual a resposta da célula foi mínima. Como previamente reportado em outros trabalhos, as células tônicas apresentaram uma resposta máxima perto de da razão 1, o maior contraste de cor desse protocolo. Finalmente, não houve mudanças na fase da resposta, indicando que essa célula responde similarmente aos LEDs verde e vermelho.

Na figura 33, o modelo matemático que foi ajustado para as amplitudes e as fases da resposta é mostrado como uma linha azul. A resposta foi modelada somente com as sensibilidades esperadas dos fotorreceptores M e L para o estímulo. Os bastonetes não foram usados nesse modelo para as respostas do *Alouatta*. A diferença em relação ao modelamento de uma célula fásica está nos parâmetros livres relacionados às fases dos fotorreceptores. Na célula fásica acima, o modelo retorna as fases dos fotorreceptores M e L com o mesmo sinal; isto é um indicativo de uma resposta somada dos dois fotorreceptores para a célula ganglionar. Em uma célula tônica, as fases encontradas possuem sinais opostos, o que sugere uma oposição entre os fotorreceptores M e L: enquanto um responde, o outro é inibido, e vice-versa. O valor de W para as frequências temporais em que houve resposta foi próximo de 0,5, o que indica uma equivalência na contribuição dos cones M e L para a responsividade cromática da célula.

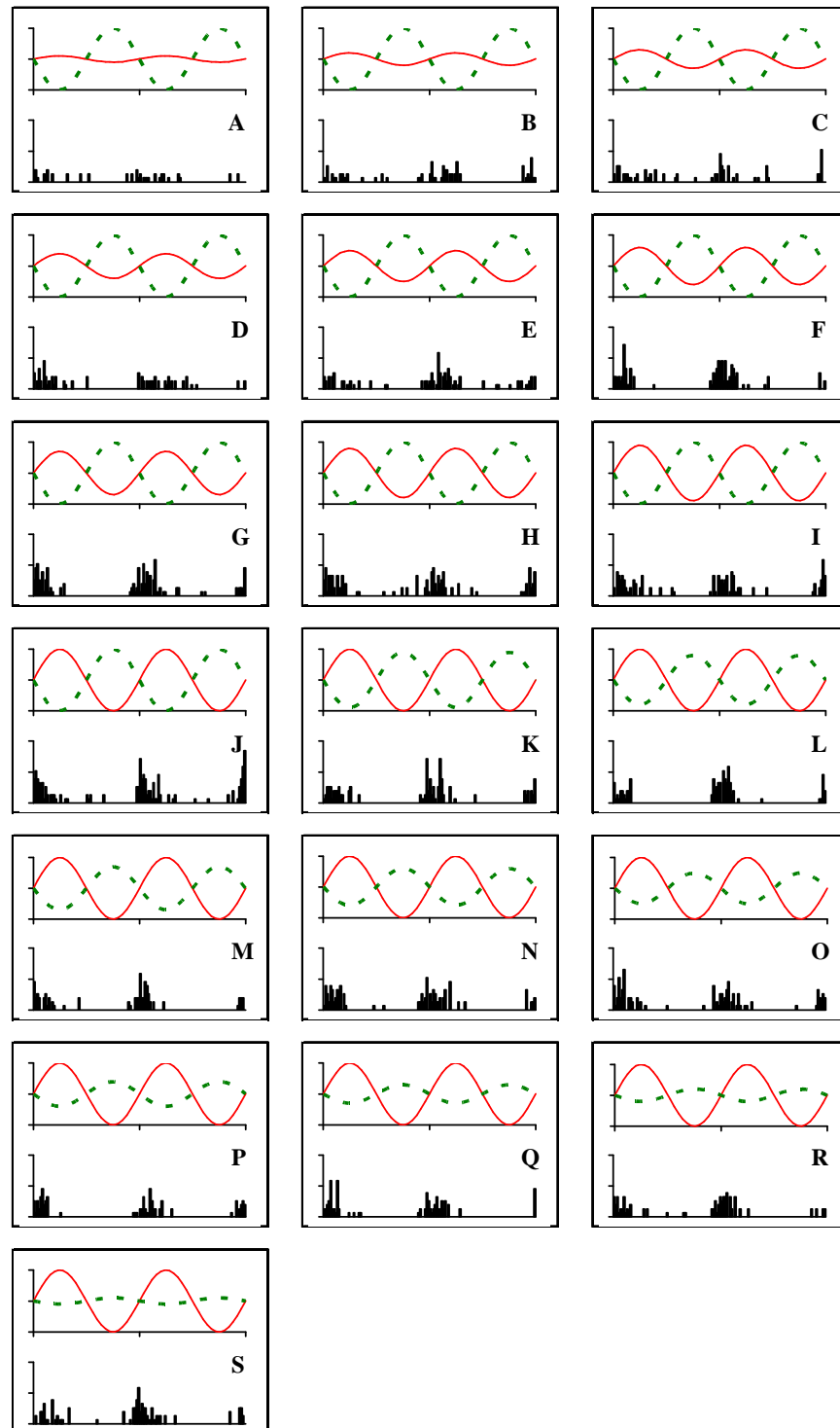


Figura 32. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar tônica $M+L$ - do *Alouatta* para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Diferente da célula fásica, a célula tônica respondeu com maior amplitude nos estímulos com maiores contrastes cromáticos. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 250 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

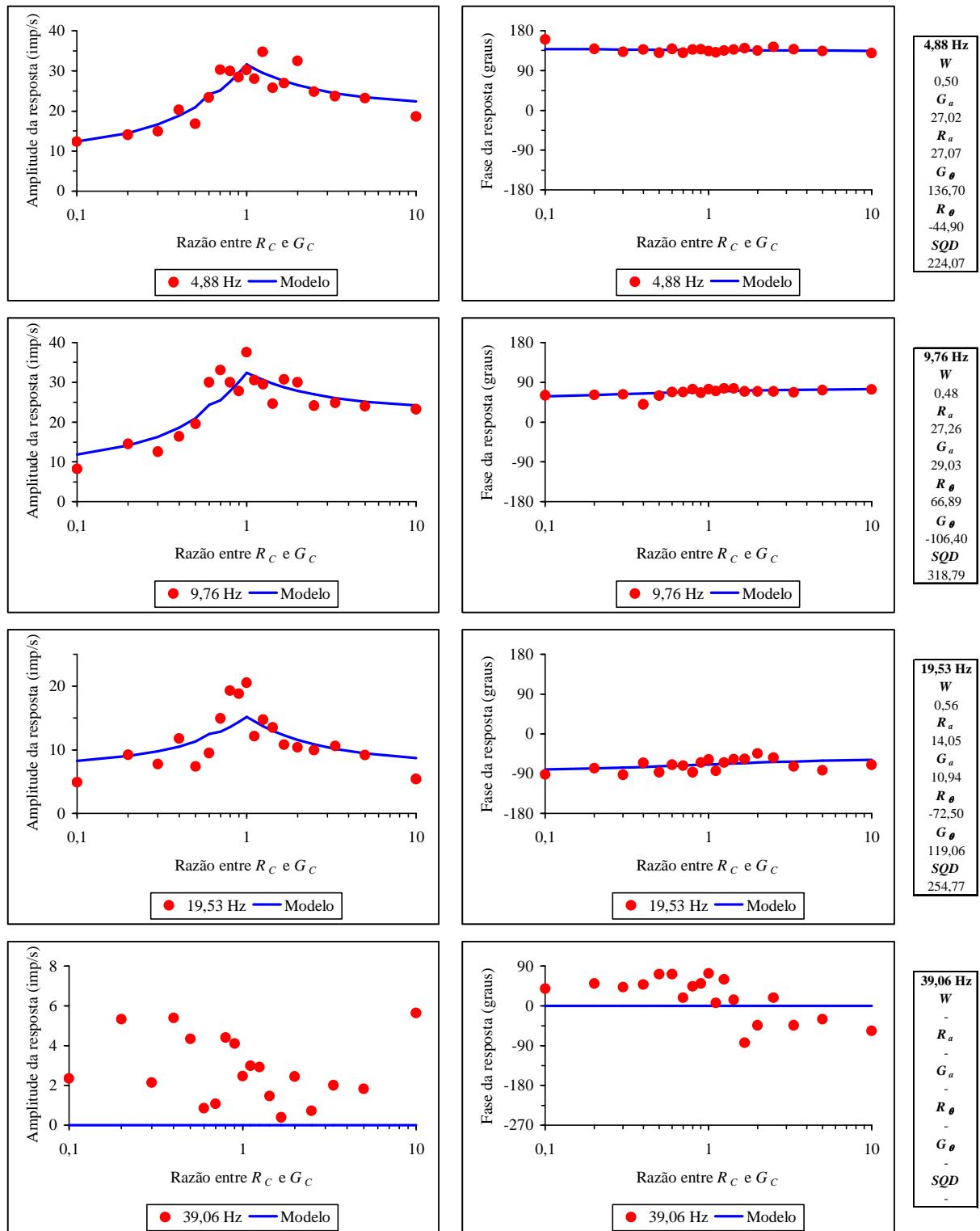


Figura 33. Célula tônica $M+L-$ do *Alouatta*. Amplitude (à esquerda) e fase (à direita) das respostas para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Quatro frequências temporais diferentes foram empregadas. A linha azul é o modelo matemático ajustado à resposta celular em cada frequência, cujos parâmetros livres estão mostrados ao lado dos gráficos de fase. As respostas na maior frequência temporal foram muito baixas e descartadas.

3.3.2 *Cebus apella*

As respostas dos *Cebus* dicromatas para o protocolo de estimulação foram coerentes com a literatura (Lee *et al.*, 2000). Não houve diferenças significativas entre as células fásicas e tônicas, como ocorreu no *Alouatta*, pois, por se tratar de um animal dicromata, as células tônicas foram pouco sensíveis para as variações cromáticas do estímulo apesar de terem respondido às variações de luminância de modo semelhante como as células fásicas o fizeram. Esse protocolo pôde ser usado com sucesso na inferência sobre o fenótipo de visão de cores do primata, isto é, qual dos três cones M/L estava presente na retina desses platirríneos. Para os dois *Cebus* estudados, Ca02♂ e Ca03♀, foram encontrados cones M/L com λ_{max} de 535 nm e de 563 nm, respectivamente.

3.3.2.1 Fenótipo de 535 nm

A Figura 34 mostra a resposta de uma célula fásica *on* do animal Ca02♂ para cada uma das condições de estimulação do protocolo. Nesses registros, o contraste máximo de Michelson usado foi de 100% enquanto a frequência temporal foi de 19,53 Hz. A célula respondeu vigorosamente nas condições iniciais de estimulação acompanhando a maior proporção do LED verde na mistura (Figura 34A-J). À medida que esta proporção começou a ser diminuída, a célula começou a ficar menos sensível e sua resposta diminuiu de amplitude (Figuras 34K-Q), atingiu um valor mínimo (Figura 34R) e, em seguida, voltou a responder desta vez acompanhando a proporção de luz vermelha na última condição de estimulação (Figura 34S). Estas respostas indicam a presença de um cone M/L com alta sensibilidade ao LED verde e uma baixa sensibilidade ao LED vermelho.

Para cada um dos histogramas desta célula, foi extraída a amplitude e a fase da resposta; estes valores foram colocados em função da razão entre o contraste do LED vermelho pelo contraste do LED verde em cada condição do estímulo. Os resultados são mostrados na Figura 35 para cada frequência temporal testada. A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal até 19,53 Hz. Em 39,06 Hz, houve uma ligeira queda na amplitude da resposta, mostrando uma perda de sensibilidade desta célula em frequências temporais altas (> 30 Hz). Esta célula apresentou um valor mínimo de resposta quando a razão entre os LEDs foi aproximadamente 5, valor válido para todas as frequências temporais estudadas. De modo similar ao *Alouatta*, na condição em que a resposta foi mínima houve uma mudança na fase do estímulo relacionada à mudança de sensibilidade da célula, cuja resposta começou a ser modulada pelo LED vermelho. O valor da proporção entre os

LEDs que provocou a menor resposta, bem como a forma do gráfico de amplitude da resposta foram interpretados como indicativo da presença de um cone M/L com λ_{max} de 535 nm.

O modelo matemático ajustado aos dados amostrais está representado nos gráficos de amplitude e de fase pela linha azul (Figura 35) em cada frequência temporal. Como o *Cebus* dicromata só possui um cone M/L na sua retina foi adotado que o outro possível fotorreceptor que estava contribuindo para a resposta era o bastonete. Então, de modo diferente do *Alouatta*, o modelo matemático das Equações 10 e 11 foi calculado como composto pelos cones M/L com λ_{max} de 535 nm (o fotorreceptor f) e pelos bastonetes (o fotorreceptor g). Somente com o uso o fotorreceptor M/L correto e a inclusão do bastonete na resposta, o modelo pôde ser ajustado aos dados com um menor SQD .

Com o aumento da frequência temporal, houve um aumento em conjunto da contribuição dos cones e dos bastonetes para a célula ganglionar até a frequência temporal de 19,53 Hz, como pode ser observado pelos valores de C_a e B_a . Para 39,06 Hz houve uma leve queda em ambas as contribuições dos fotorreceptores. Houve uma tendência para o valor de W aumentar com o aumento da frequência temporal. Esta célula foi dominada mais por cones em todas as condições estudadas.

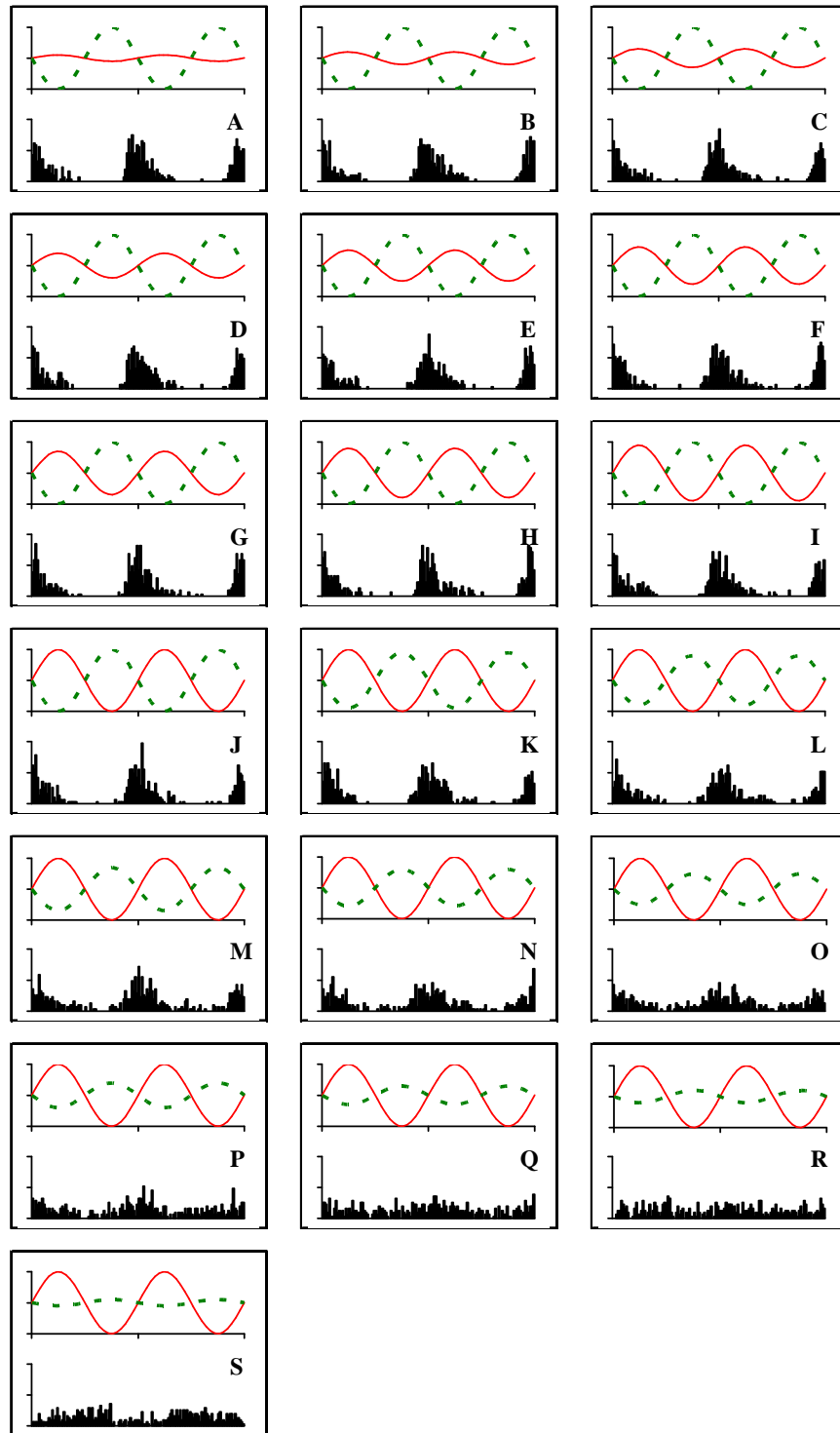


Figura 34. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* de *Cebus dicromata* para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 300 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

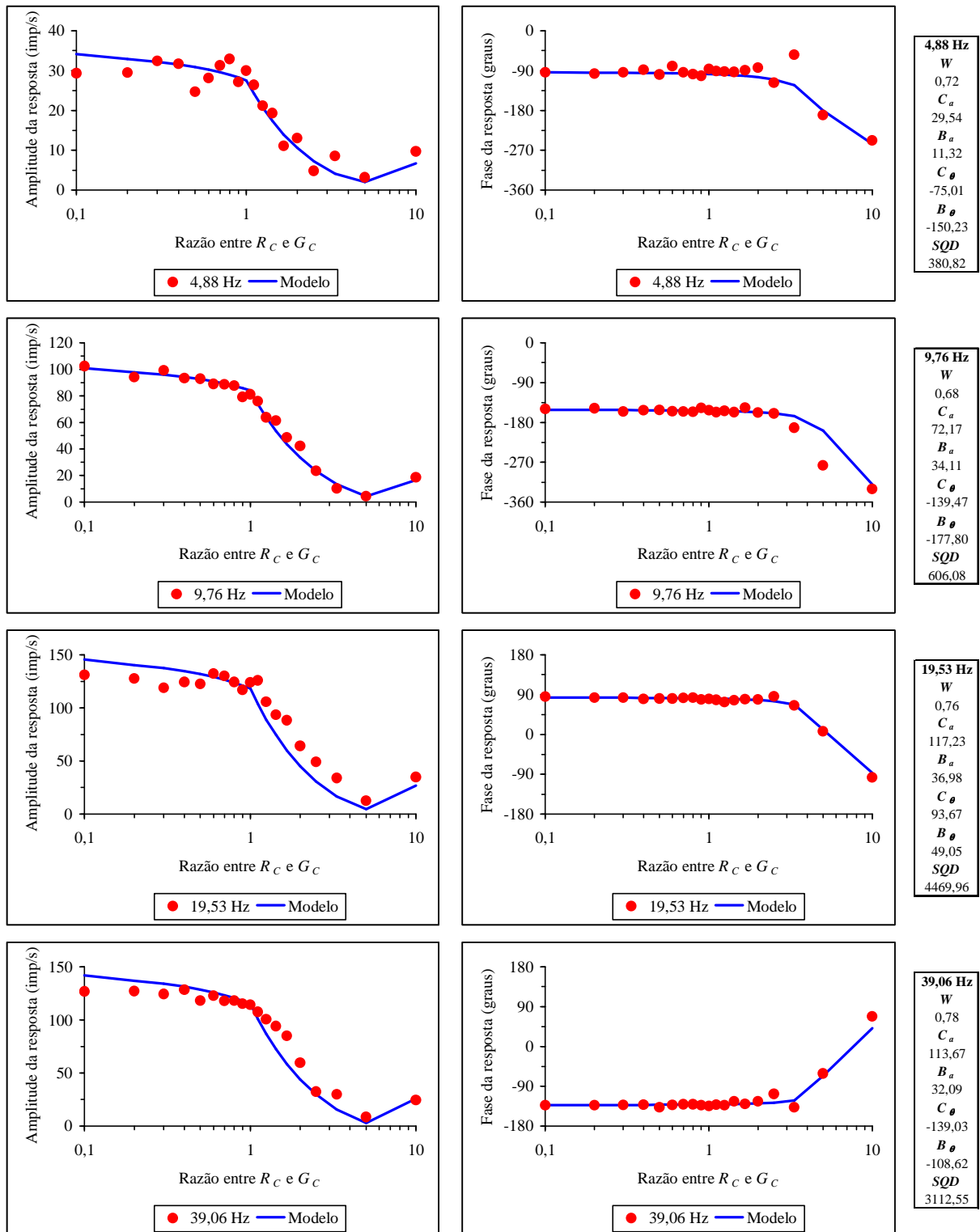


Figura 35. Amplitude (à esquerda) e fase (à direita) das respostas de uma célula fásica *on* de *Cebus*. Valores obtidos dos histogramas da figura anterior, sob estimulação com o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático em quatro frequências temporais diferentes. A linha azul é o modelo matemático interpolado considerando uma contribuição de cones M/L de $\lambda_{max} = 535$ nm e dos bastonetes para a resposta celular. Os parâmetros livres dos modelos estão discriminados à direita dos gráficos de fase.

3.3.2.2 Fenótipo de 563 nm

A resposta de uma célula fásica *on* do animal Ca03♀ para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático está mostrada na Figura 36. Histogramas obtidos com um contraste máximo de Michelson de 100%, na frequência temporal de 19,53 Hz. A célula respondeu para as condições iniciais de estimulação, porém com uma amplitude menor que a do outro *Cebus* estudado. A resposta foi decrescendo com o decorrer do teste e na condição da Figura 35H, apresentou um valor mínimo. Nas condições seguintes, a célula voltou a responder, inicialmente com uma baixa amplitude (36I), provocada pela modulação do LED vermelho. Houve uma maior sensibilidade ao LED vermelho do que ao LED verde, pois a amplitude de resposta na última condição (Figura 36S) ficou maior do que no início do protocolo de estimulação visual (Figura 36A). Estas respostas sugerem a presença de um cone M/L com λ_{max} de 563 nm, o qual possui uma sensibilidade menor ao LED verde do que ao LED vermelho (Figura 7B, Tabela 3).

A Figura 37 mostra os gráficos de amplitude e de fase da resposta para cada uma das frequências temporais em que a célula foi testada. A amplitude da resposta aumentou com a frequência temporal em todas as condições. Na frequência temporal mais baixa, a resposta mínima da célula ocorreu em uma razão entre os LEDs variando entre 0,8 e 0,9; com o aumento da frequência temporal, a resposta mínima ficou entre 0,7 e 0,8. Em todas essas frequências temporais também houve uma mudança de quase 180° na fase da resposta. Com o aumento da frequência temporal, houve um aumento da contribuição dos cones e dos bastonetes para a célula ganglionar. Houve um aumento da contribuição dos cones em relação aos bastonetes com o incremento da frequência temporal. Esta célula foi dominada pelos cones em todas as condições de teste.

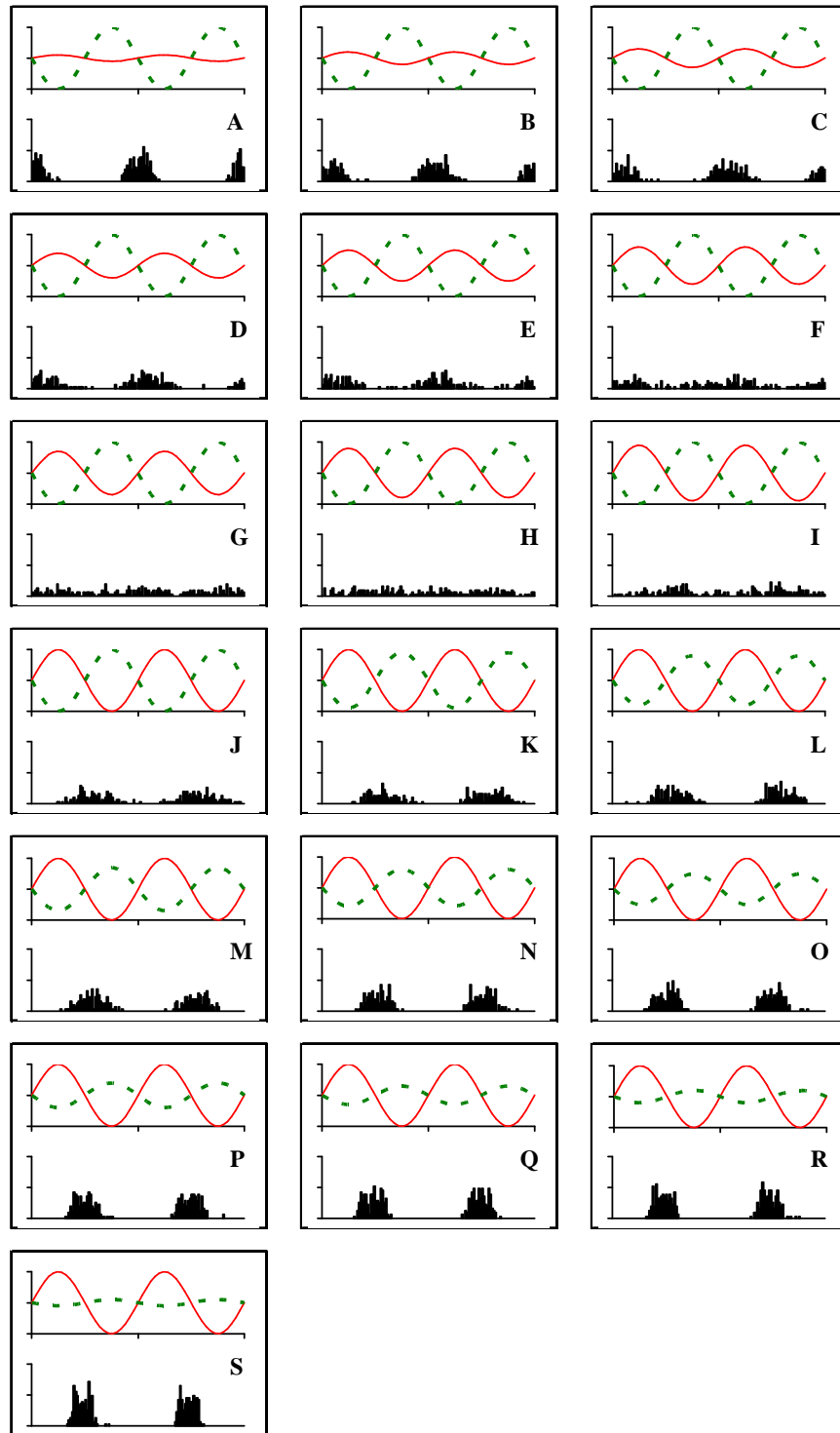


Figura 36. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* de *Cebus* para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. O fotorreceptor M/L do animal foi classificado como o de $\lambda_{max} = 563$ nm, pois a resposta mínima da célula ocorreu na condição H. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa do histograma: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 300 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

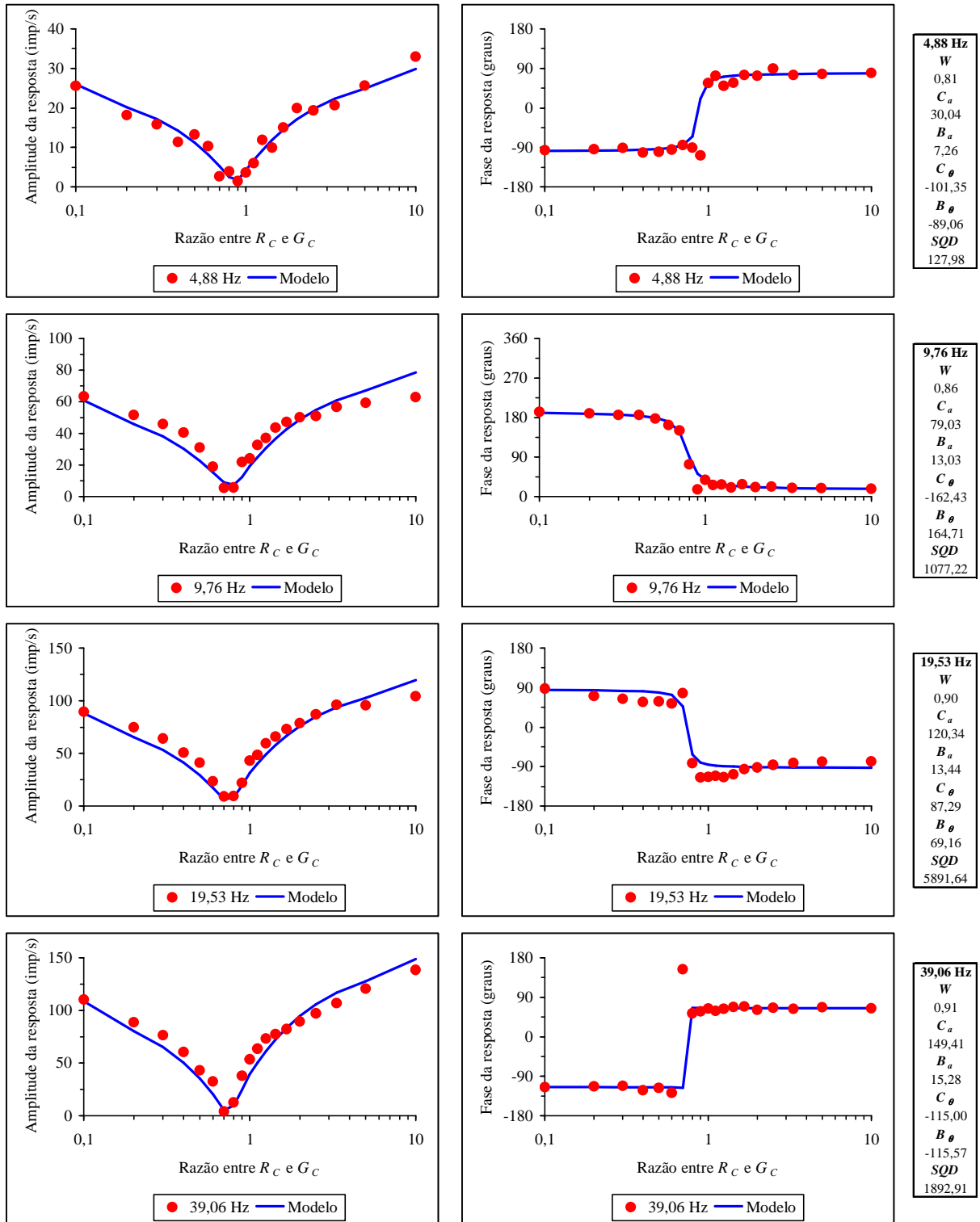


Figura 37. Amplitude e fase das respostas da célula fásica *on* do *Cebus* para a fotometria com *flicker* heterocromático nas quatro frequências temporais de estimulação desse protocolo. A linha azul é o modelo matemático interpolado considerando uma contribuição de cones M/L de $\lambda_{max} = 563$ nm e dos bastonetes para a resposta celular. Os parâmetros livres dos modelos estão discriminados à direita dos gráficos de fase. Os parâmetros estão discriminados nas tabelas à direita dos gráficos.

3.3.3 *Aotus infulatus*

Assim como previamente mostrado para o *Cebus* dicromatas, as células fásicas e tônicas do *Aotus* também não tiveram diferenças visíveis entre si para a fotometria. De modo consistente com as respostas apresentadas pelas células tônicas noutros protocolos de estimulação, as células tônicas do *Aotus* foram pouco responsivas para as variações cromáticas do estímulo; e foram mais sensíveis aos contrastes de luminância. Por ser um animal monocromata, sem a presença de polimorfismo sexual para visão de cores e possuir uma alta densidade de bastonetes na sua retina, as respostas das células ganglionares foram consideradas como um produto da contribuição tanto dos fotorreceptores cones com $\lambda_{max}=543$ nm quanto dos bastonetes.

A Figura 38 mostra a resposta de uma célula *Mon*, registrada em um dos *Aotus* (Ai01♀), com um contraste máximo de Michelson de 100% e em uma frequência temporal de 19,53 Hz. Esta célula respondeu em quase todas as condições de estimulação e foi modulada pelo LED verde até a condição da Figura 38N, onde apresentou a menor resposta e, a partir de então começou a ser modulada pelo LED vermelho (Figuras 38O-S). A amplitude da resposta foi maior para o LED verde do que para o LED vermelho condizente com a sensibilidade calculada para o fotorreceptor com λ_{max} de 543 nm encontrado na retina deste primata (Jacobs *et al.*, 1993; Jacobs *et al.*, 1996). A Figura 39 mostra a amplitude e a fase da resposta em todas as frequências temporais em que a célula foi testada. A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal, exceto para 39,06 Hz. Para todas as frequências temporais, a resposta mínima da célula ocorreu em proporções entre os LEDs variando entre 1 e 3, próximos do valor da resposta esperada (2) para esse cone (Figura 8B). Neste ponto de mínimo, houve uma mudança na fase do estímulo, consistente com a mudança na resposta da célula que, a partir deste valor, começou a ser estimulada pelo LED vermelho. Esta mudança não foi muito abrupta, o que sugere interações entre os cones e os bastonetes, os quais possuem diferentes características temporais, para a resposta celular (Weiss *et al.*, 1998). O modelo matemático que foi interpolado à resposta está representado nos gráficos de amplitude e de fase pela linha azul (Figura 39). Houve uma boa correlação em todas as frequências temporais, exceto em parte da amplitude obtida nas menores frequências temporais. Com o aumento da frequência temporal, houve um aumento em conjunto da contribuição dos cones e dos bastonetes para resposta da célula ganglionar. O valor de *W* aumentou ligeiramente com o aumento da frequência temporal. Esta célula foi menos dominada por cones do que as células de *Cebus*.

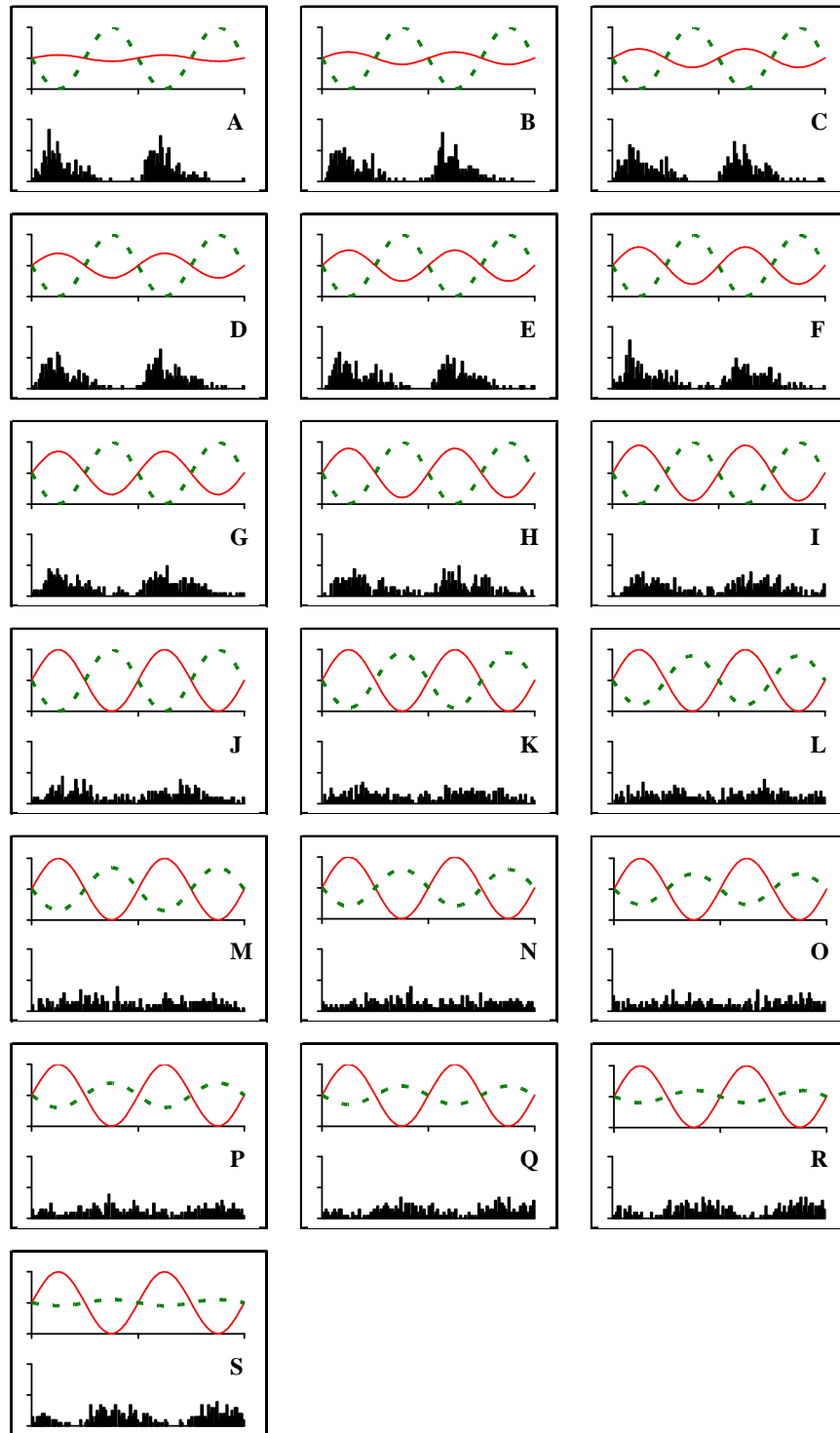


Figura 38. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* de *Aotus* para o protocolo de fotometria com *flicker* heterocromático. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa do histograma: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 200 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

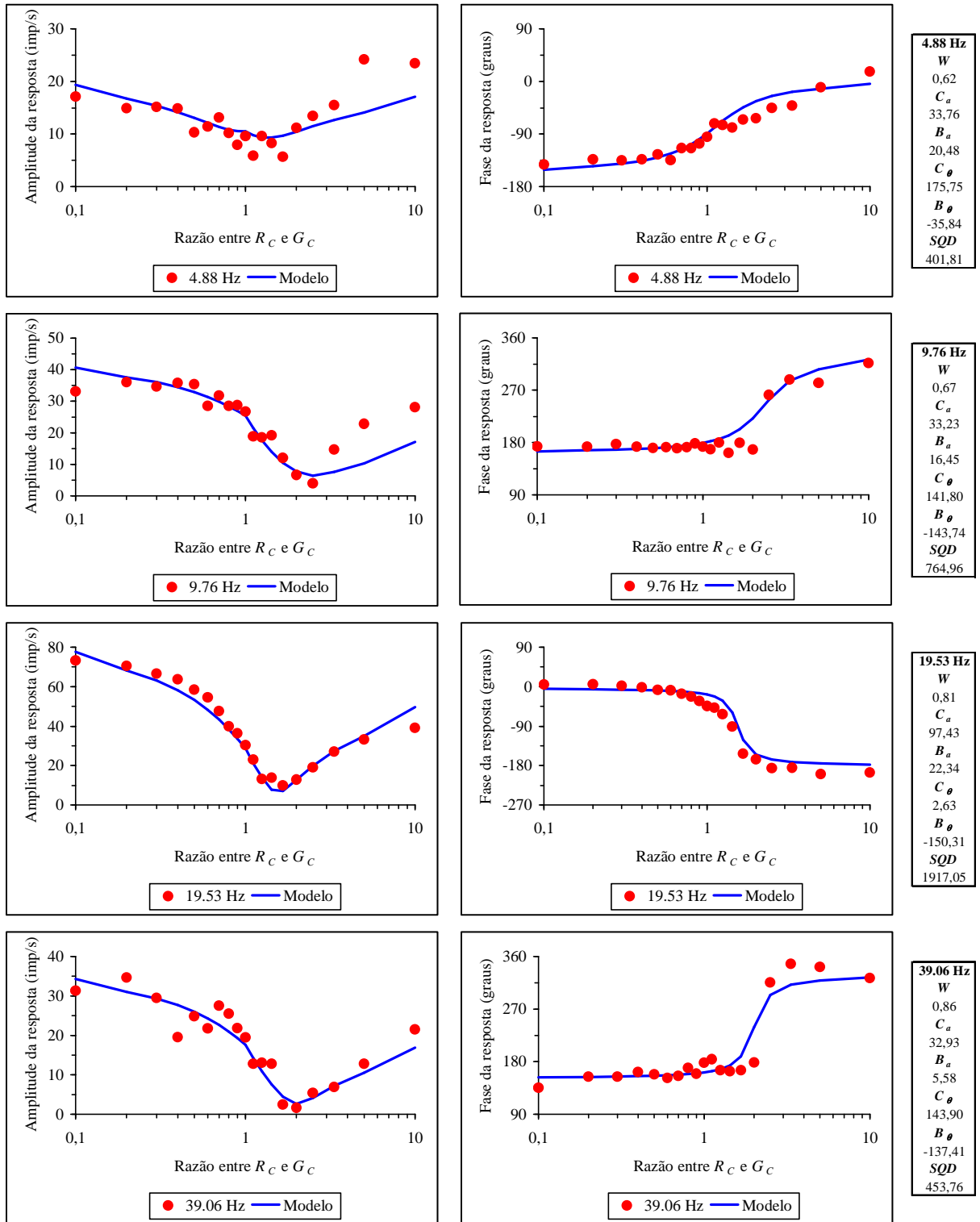


Figura 39. Amplitude e fase das respostas em função da razão entre os LEDs, da célula fásica *on* da figura anterior. A linha azul é o modelo matemático interpolado aos dados. Os parâmetros estão discriminados nas tabelas à direita dos gráficos.

3.4. RESPONSABILIDADE AO PROTOCOLO DE FASE

3.4.1 *Alouatta caraya*

Os registros unitários das células ganglionares do *Alouatta* também corroboraram a hipótese de que os esse platirríneo evoluiu uma visão tricromática semelhante àquela presente em catarríneos. As células tônicas encontradas responderam com maior amplitude nas condições de contraste de cor do protocolo de fase, enquanto que as células fásicas mostraram uma alta sensibilidade para estímulos acromáticos.

3.4.1.1 Células ganglionares fásicas

As respostas de uma célula fásica do *Alouatta caraya* Ac01♂ para a protocolo de fase são mostradas na Figura 40. O contraste de Michelson dos LEDs foi 100%, e a modulação foi feita em uma frequência temporal de 9,76 Hz. As células fásicas responderam com uma baixa amplitude nas condições iniciais de estimulação, nas quais o LED verde e o LED vermelho estão em oposição de fase e o estímulo possui um alto contraste de cor (Figura 30A-P). À medida que a fase do LED verde se aproxima da fase do LED vermelho (Figuras B-H), a resposta da célula aumentou progressivamente e alcançou os maiores valores de amplitude nas condições de alto contraste de luminância em que a diferença de fase entre os LEDs era zero ou próximo de zero. Nas condições restantes, a célula voltou a diminuir de responsividade com o aumento da fase entre os LEDs e o subsequente aumento do contraste de cor no estímulo.

Para cada um dos histogramas da Figura 40, a amplitude, em imp/s, e a fase, em graus, do primeiro harmônico das respostas foram calculados e colocados em função da diferença de fase entre os LEDs ($R_\theta - G_\theta$), em cada uma das seis frequências temporais testadas. Os resultados estão mostrados na Figura 41. Os gráficos da esquerda são a amplitude e os gráficos da direita são a fase da resposta para uma determinada frequência temporal de estimulação (de cima para baixo: 1,22 Hz, 2,44 Hz, 4,88 Hz, 9,76 Hz, 19,53 Hz e 39,06 Hz). Os pontos vermelhos em cada gráfico são os valores de amplitude ou de fase da resposta.

A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal até 19,53 Hz. Em 39,06 Hz, houve uma ligeira queda na amplitude da resposta, mostrando uma perda de sensibilidade desta célula em frequências temporais altas (> 30 Hz). A resposta da célula foi máxima em todas as frequências temporais quando a diferença de fase entre os LEDs foi próxima de zero. Nas condições iniciais houve uma mudança de aproximadamente 180° na fase da resposta, provavelmente devido à ocorrência de não-linearidades na resposta dessa célula fásica para altos contraste de cores.

O modelo matemático (Equações 17 e 18) ajustado aos dados amostrais em cada frequência temporal está representado nos gráficos da Figura 41 (linha azul). Esse modelo prevê uma contribuição linear e ponderada (vetorial) de dois diferentes fotorreceptores para a resposta da célula ganglionar. No caso do *Alouatta*, o mesmo modo adotado para a fotometria com *flicker* heterocromático foi usado: foi estipulado que as células recebem uma maior contribuição dos cones M, com λ_{max} de 530 nm (o fotorreceptor f das equações), e dos cones L, com λ_{max} de 562 nm (o fotorreceptor g das equações). Os valores dos parâmetros livres obtidos para esse modelo estão localizados nas tabelas da Figura 41. De um modo geral, a resposta celular foi satisfatoriamente modelada, desde que fosse usado ambos os fotorreceptores M e L, e que fosse ignorada possíveis contribuições dos bastonetes na resposta. Somente quando essas duas pressuposições foram adotadas, o modelo ajustou-se aos dados com um menor erro (SQD , soma dos quadrados das diferenças entre o modelo e os dados amostrais). Então, para o *Alouatta*, W é uma variável adimensional que quantifica a contribuição dos fotorreceptores M e L para a resposta da célula; quanto mais próximo de 1, maior a contribuição do cone M e quanto mais próximo de 0, maior a contribuição do cone L.

Essa célula foi mais dominada pelo cone M em todas as frequências, exceto para a frequência de 9,76 Hz. Não houve uma tendência clara para o valor de W aumentar ou diminuir com o aumento da frequência temporal.

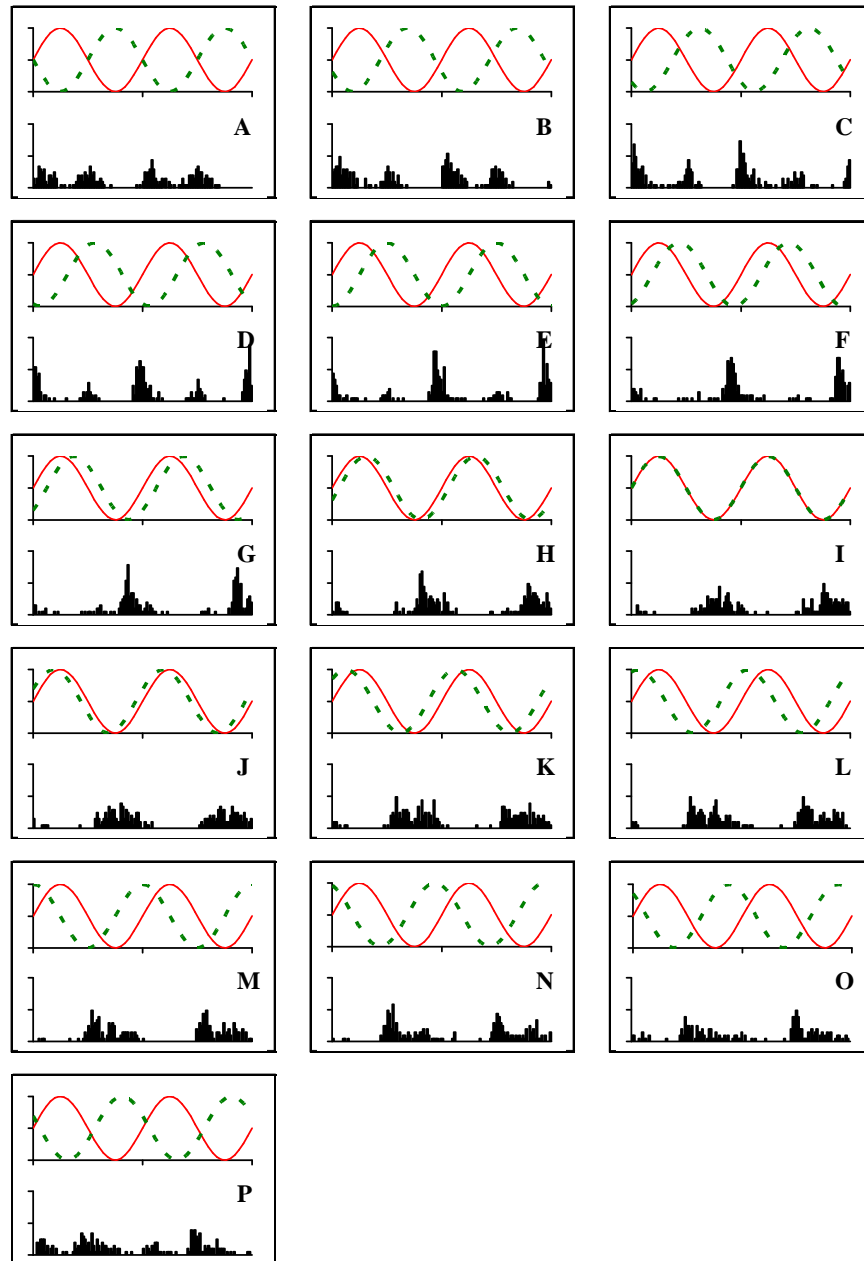


Figura 40. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *off* de *Alouatta*. Estimulação pelo protocolo de fase. Frequência de estimulação: 9,76 Hz. Abscissa: 204,8 ms. Ordenada do histograma: 200 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

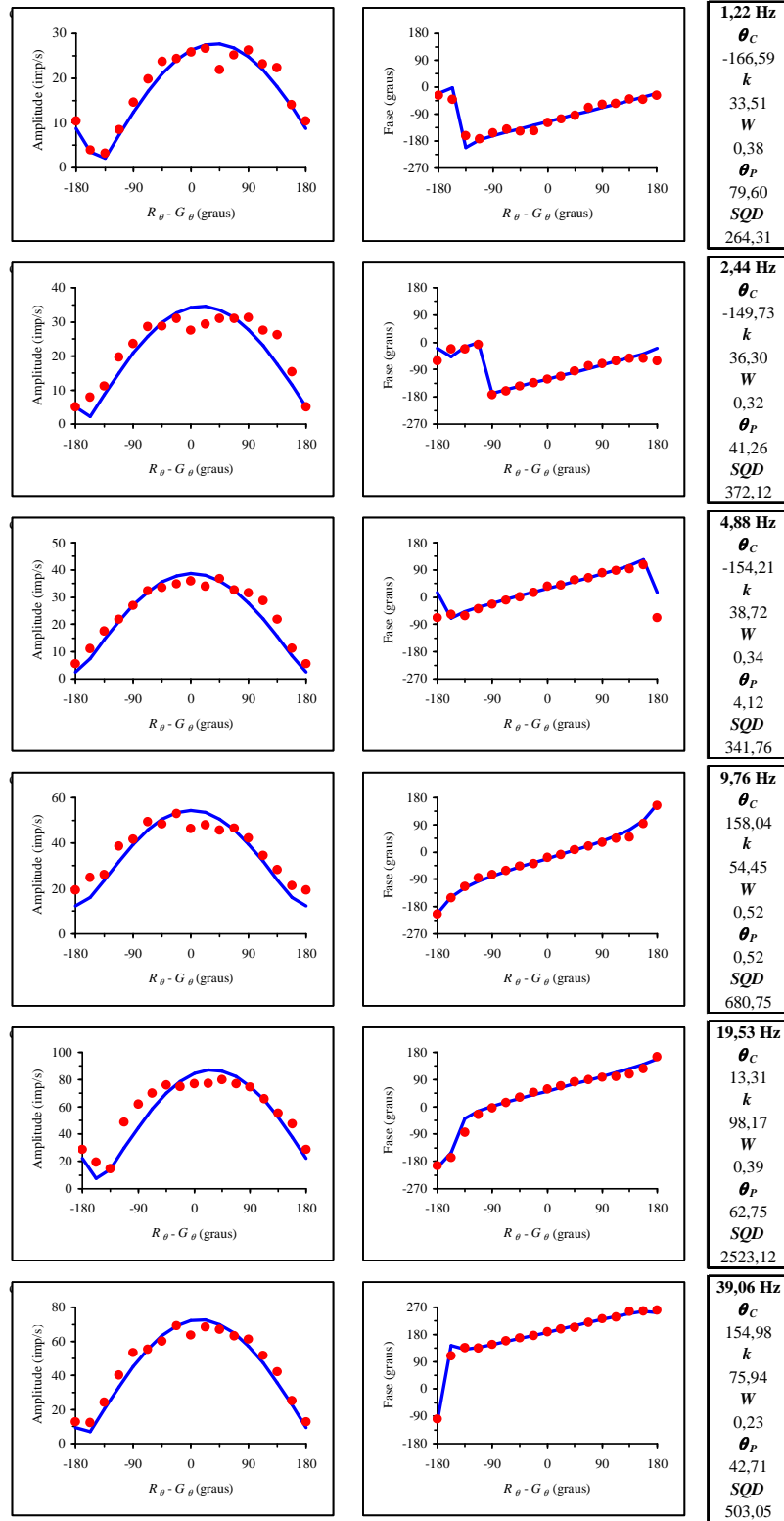


Figura 41. Amplitude e fase das respostas de uma célula fásica *off* de *Alouatta*. Estimulação pelo protocolo de fase. Valores obtidos dos histogramas da figura anterior, sob estimulação em seis frequências temporais diferentes. A linha azul é o modelo matemático ajustado à resposta celular em cada frequência. Os parâmetros livres dos modelos estão discriminados à direita dos gráficos de fase.

3.4.1.2 Células ganglionares tônicas

Os registros de uma célula tônica *M+L-* do *Alouatta* Ac01♂ para o protocolo de fase são mostrados na Figura 42. O contraste de Michelson dos LEDs foi 50%, pois a célula foi pouco responsiva no contraste de 100%. A modulação foi feita em uma frequência temporal de 9,76 Hz. De modo diferente das células fásicas, as células tônicas responderam com uma maior amplitude nas condições em que os LEDs estavam em oposição de fase (Figura 42A e 42P) enquanto foram menos responsivas para os estímulos com alto contraste de luminância (Figura 42I).

A amplitude e a fase das respostas foram extraídas e são mostradas em função da diferença de fase entre os LEDs, para cada uma das seis frequências temporais testadas, na Figura 43. As células tônicas apresentaram uma maior amplitude de resposta nas frequências temporais abaixo de 19,53 Hz; mas quando comparadas com as células fásicas, os valores máximos de amplitude dessas últimas foram maiores. Então, a partir da frequência de 19,53 Hz a resposta diminuiu de amplitude e foi praticamente ausente em 39,06 Hz. Como previamente reportado em outros trabalhos, as células tônicas apresentaram uma resposta máxima quando os LEDs estavam em total oposição de fase (-180° ou $+180^\circ$), condições em que o contraste de cor é máximo nesse protocolo.

Na figura 43, o modelo matemático que foi ajustado para as amplitudes e as fases da resposta é mostrado como uma linha azul. A resposta foi modelada adequadamente a somente com a sensibilidade esperada dos fotorreceptores M e L para o estímulo, sem nenhuma contribuição por parte dos bastonetes. O valor de W para as frequências temporais em que houve resposta foi próximo de 0,5, o que indica uma equivalência na contribuição dos cones M e L para a responsividade cromática da célula.

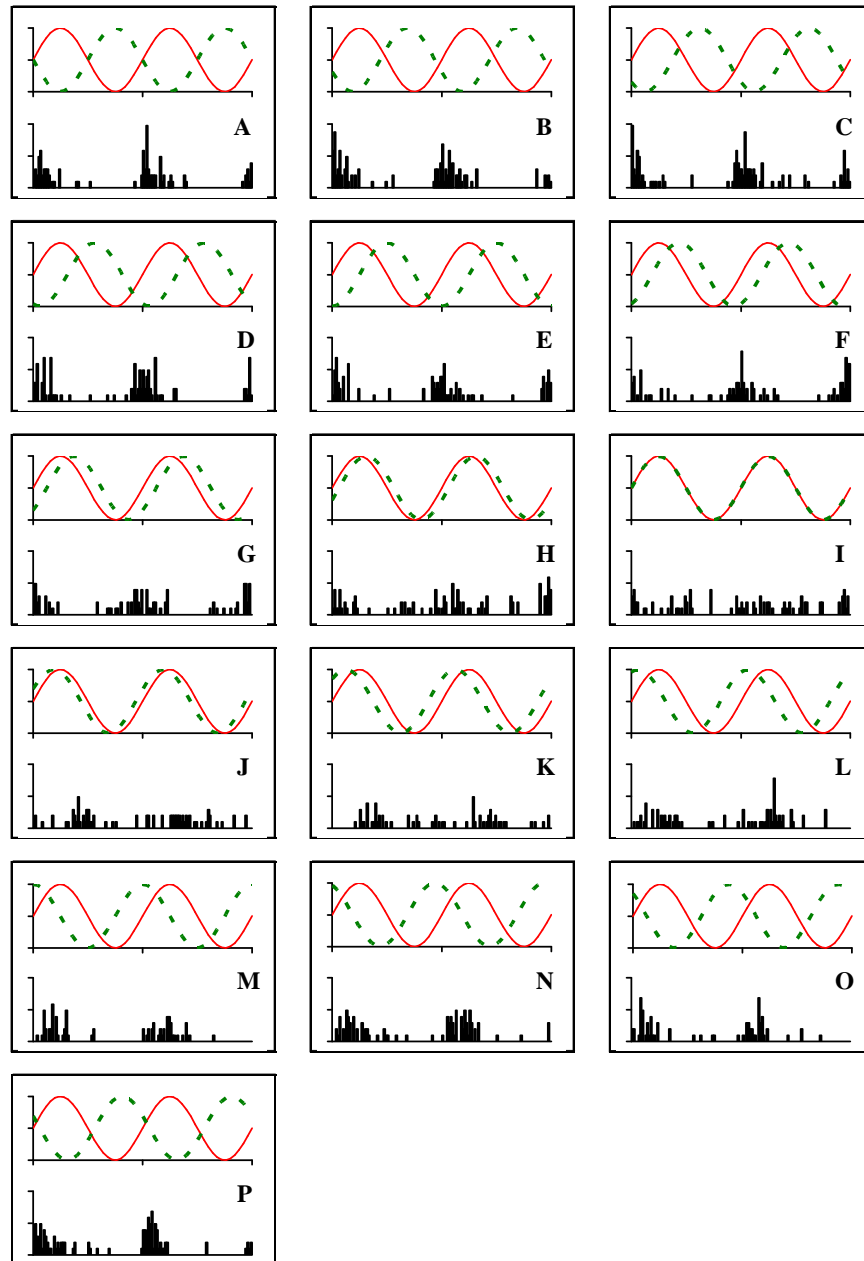


Figura 42. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar tônica *M+L-* do *Alouatta* para o protocolo de fase. Diferente da célula fásica, a célula tônica respondeu com maior amplitude nos estímulos com maiores contrastes cromáticos. Frequência de estimulação: 9,76 Hz. Abscissa: 204,8 ms. Ordenada do histograma: 100 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

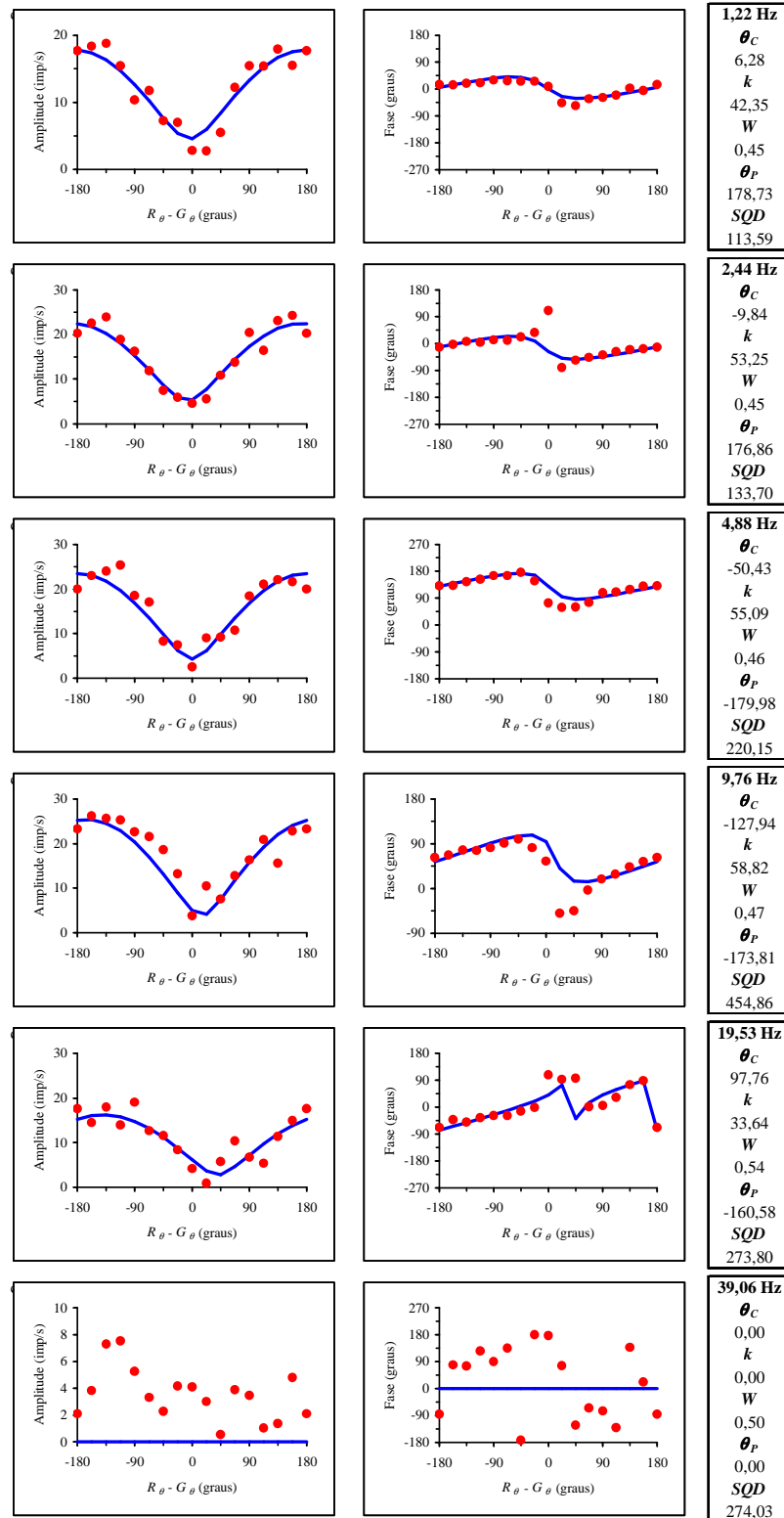


Figura 43. Célula tônica $M+L-$ do Alouatta. Amplitude (à esquerda) e fase (à direita) das respostas para o protocolo de fase. Seis frequências temporais diferentes foram testadas. A linha azul é o modelo matemático ajustado à resposta celular em cada frequência, cujos parâmetros livres estão mostrados ao lado dos gráficos de fase. As respostas na maior frequência temporal foram muito baixas e descartadas.

3.4.2 *Cebus apella*

Assim como na fotometria com *flicker* heterocromático, esse protocolo pôde ser usado para inferir qual dos três cones M/L estava presente na retina dos *Cebus*. Os resultados dessa inferência, foram consistentes com o fenótipo encontrado pela análise fotométrica: os dois *Cebus* estudados, Ca02♂ e Ca03♀, provavelmente possuem cones M/L com λ_{max} de 535 nm e de 563 nm, respectivamente. Não houve diferenças visíveis entre as respostas das células ganglionares fásicas e tônicas para esse protocolo.

3.4.2.1 Fenótipo de 535 nm

A Figura 44 mostra uma célula fásica *on* medida sob uma iluminância retiniana de 2000 Td e com uma frequência temporal de 19,53 Hz do *Cebus* Ca02♂. Apesar da baixa amplitude é possível visualizar que em todas as condições de estimulação, a célula foi modulada pelo LED verde; a fase da resposta acompanhou a fase do LED verde. A amplitude e a fase da resposta extraídas do primeiro harmônico da resposta em todas as seis frequências temporais em que a célula foi testada são mostrados na Figura 45. A amplitude da resposta aumentou com o incremento da frequência temporal e diminuiu em 39,06 Hz. A fase da resposta manteve-se com um perfil diagonal, o que sugere: i) uma forte contribuição dos bastonetes para a resposta em frequências temporais baixas; ii) uma contribuição do cone com $\lambda_{max}=535$ nm (Figura 9D). Ambos os fotorreceptores são mais sensíveis para o LED verde do que para o LED vermelho (Figura 5B). Este resultado está de acordo com aquele obtido pela fotometria com *flicker* heterocromático.

O modelo matemático que foi interpolado à resposta está mostrado nos gráficos pela linha azul (Figura 45). Os parâmetros do modelo são: k é um fator escalar para a amplitude; W é o índice de contribuição dos cones com $\lambda_{max}=535$ nm (fotorreceptor f nas equações 17, 18 e 19) e dos bastonetes (fotorreceptor g nas equações 17, 18 e 19) na resposta; θ_c e θ_p , são a fase de ativação do centro e da periferia do campo receptivo; respectivamente. Em todas as frequências temporais, a fase da resposta foi bem modelada. Para a amplitude houve uma maior variação, porém o modelo ajustou-se de maneira adequada. Estudos em células ganglionares da retina (Lee *et al.*, 2000) e do LGN (Yeh *et al.*, 1995) também mostraram uma maior estabilidade da fase da resposta para esse protocolo. Então, mesmo se a amplitude for baixa, a fase pode ser usada como um identificador do fenótipo do animal. Com o aumento da frequência temporal, o valor de W aumentou, indicando uma maior contribuição dos cones para a resposta da célula.

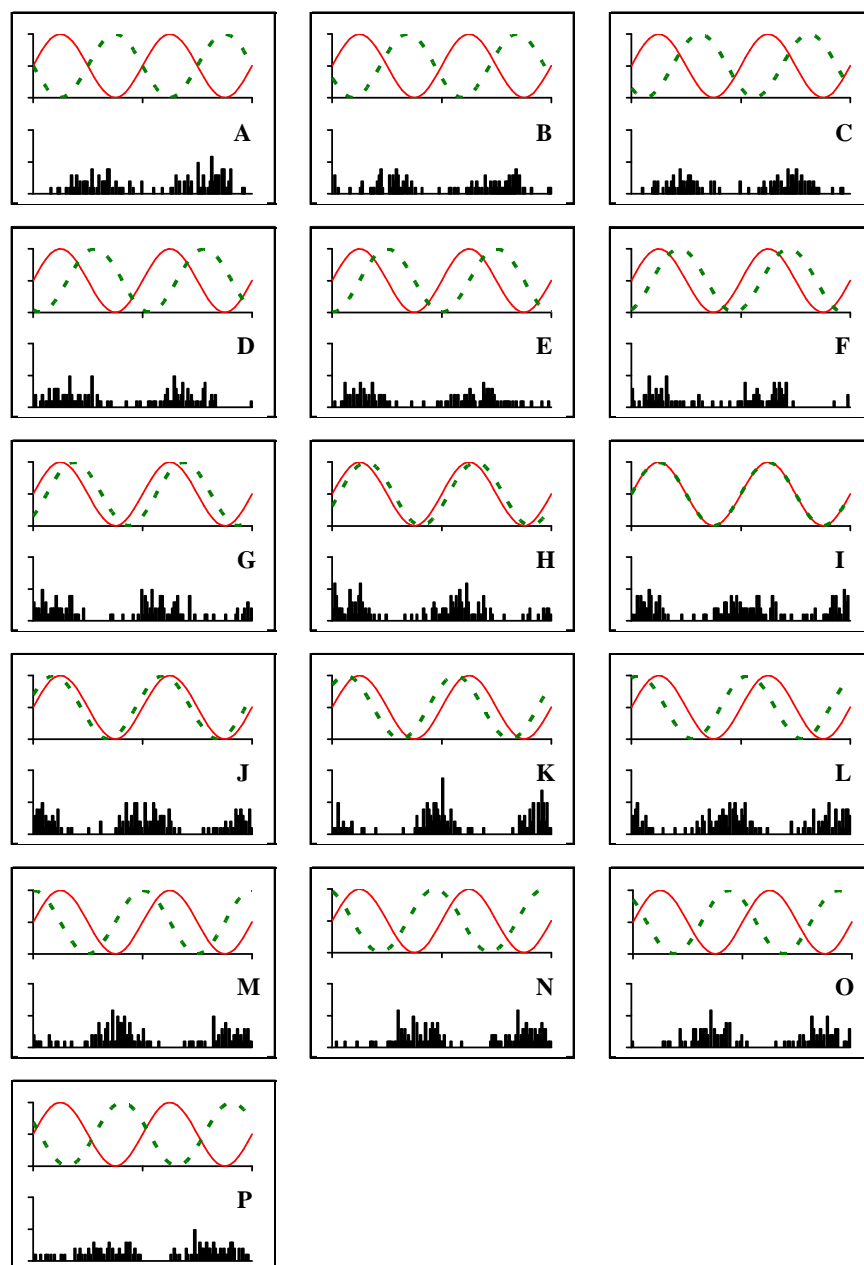


Figura 44. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* de *Cebus* dicromata para o protocolo de fase. O fotorreceptor M/L do animal foi classificado como o de $\lambda_{max}=535$ nm em concordância com os resultados da fotometria com *flicker* heterocromático. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa do histograma: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 100 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

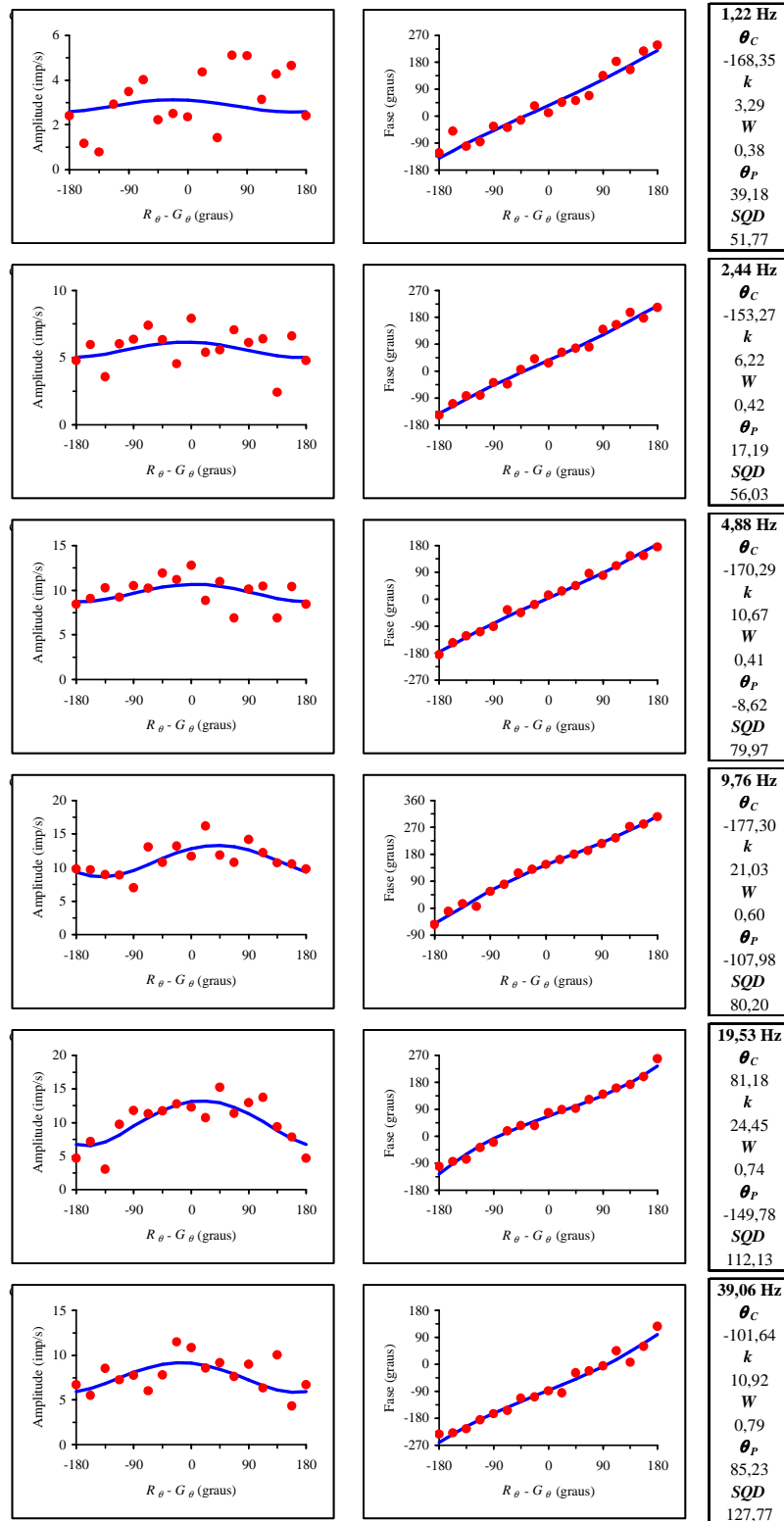


Figura 45. Amplitude e fase das respostas da célula fásica *on* de *Cebus* dicromata para as seis frequências temporais de estimulação do protocolo de fase. A linha azul é o modelo matemático ajustado para bastonetes e um fotorreceptor M/L com $\lambda_{max}=535$ nm. A amplitude da resposta aumentou com a frequência temporal até 19,53 Hz. A fase ficou diagonal em todas as frequências temporais consistente com uma maior sensibilidade da célula ao LED verde; porém houve uma leve curvatura em frequências temporais altas, graças a uma maior contribuição do cone M/L na resposta.

3.4.2.2 Fenótipo de 563 nm

Para o outro *Cebus* dicromata, Ca03♀, a Figura 46 mostra as respostas de uma célula fásica *on* para o protocolo de fase, sob uma iluminância retiniana de 2000 Td e em uma frequência temporal de 19,53 Hz. A amplitude foi menor nas condições de contraste de cor máximo (Figuras 46A e 46P) e maior em uma condição próxima ao contraste de luminância máximo (Figura 46J). A amplitude da resposta dessa célula foi maior quando comparada com a célula fásica anteriormente mostrada para o *Cebus* Ca02♂ (Figura 44). Entretanto, enquanto a fase da resposta da célula anterior variou de modo diagonal com a diferença de fase entre os LEDs (Figura 45), a fase da resposta dessa célula não acompanhou a mudança linear de fase sofrida pelo LED verde. A figura 46 mostra a variação da amplitude e da fase da resposta em função da diferença de fase entre os LEDs medidas em seis frequências temporais. A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal, em todas as condições. A fase da resposta apresentou um perfil mais horizontal, o que sugere a presença de um fotorreceptor mais sensível para o LED vermelho, cuja fase fica constante durante todo o protocolo. A partir do perfil de variação da amplitude e da fase da resposta para esse protocolo, bem como o resultado anterior da fotometria para esse *Cebus*, foi adotado que os fotorreceptores presentes na retina eram cones com $\lambda_{max}=563$ nm, e bastonetes. Portanto, a resposta das células ganglionares foi modelada considerando esses fotorreceptores e a contribuição de cada um deles, calculada. O modelo matemático resultante foi superposto aos dados de amplitude e de fase da resposta, e em todas as frequências temporais os resultados foram bem aproximados pelo modelo matemático. O índice de contribuição dos cones e dos bastonetes, W , ficou sempre acima de 0,8 e sofreu uma leve tendência para o aumento com a frequência temporal. Essa célula foi mais dominada por cones do que a célula previamente estudada, nesse mesmo animal, com a fotometria com *flicker* heterocromático.

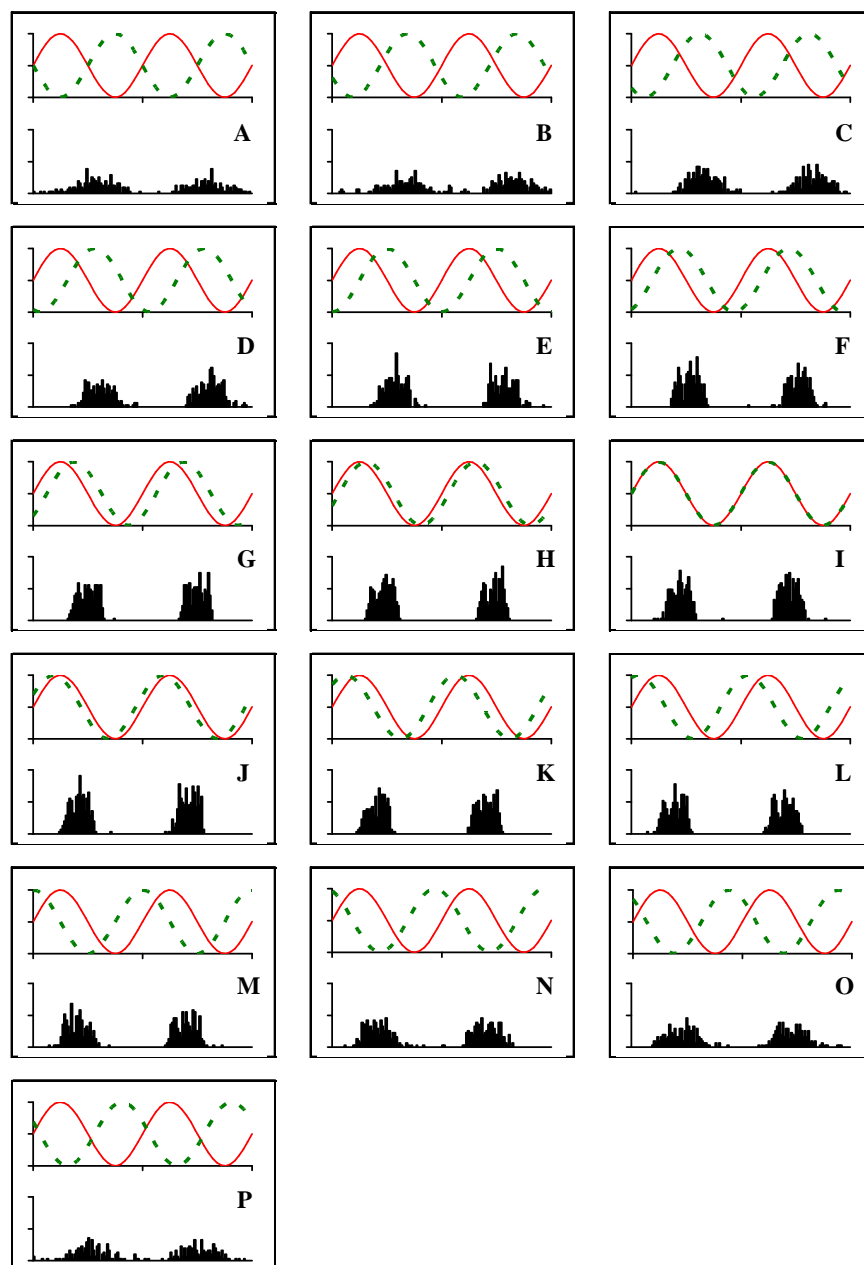


Figura 46. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* de *Cebus* para o protocolo de fase. O fotorreceptor M/L desse animal dicromata foi classificado como o de $\lambda_{max}=563$ nm em concordância com a fotometria com *flicker* heterocromático. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa do histograma: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 300 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

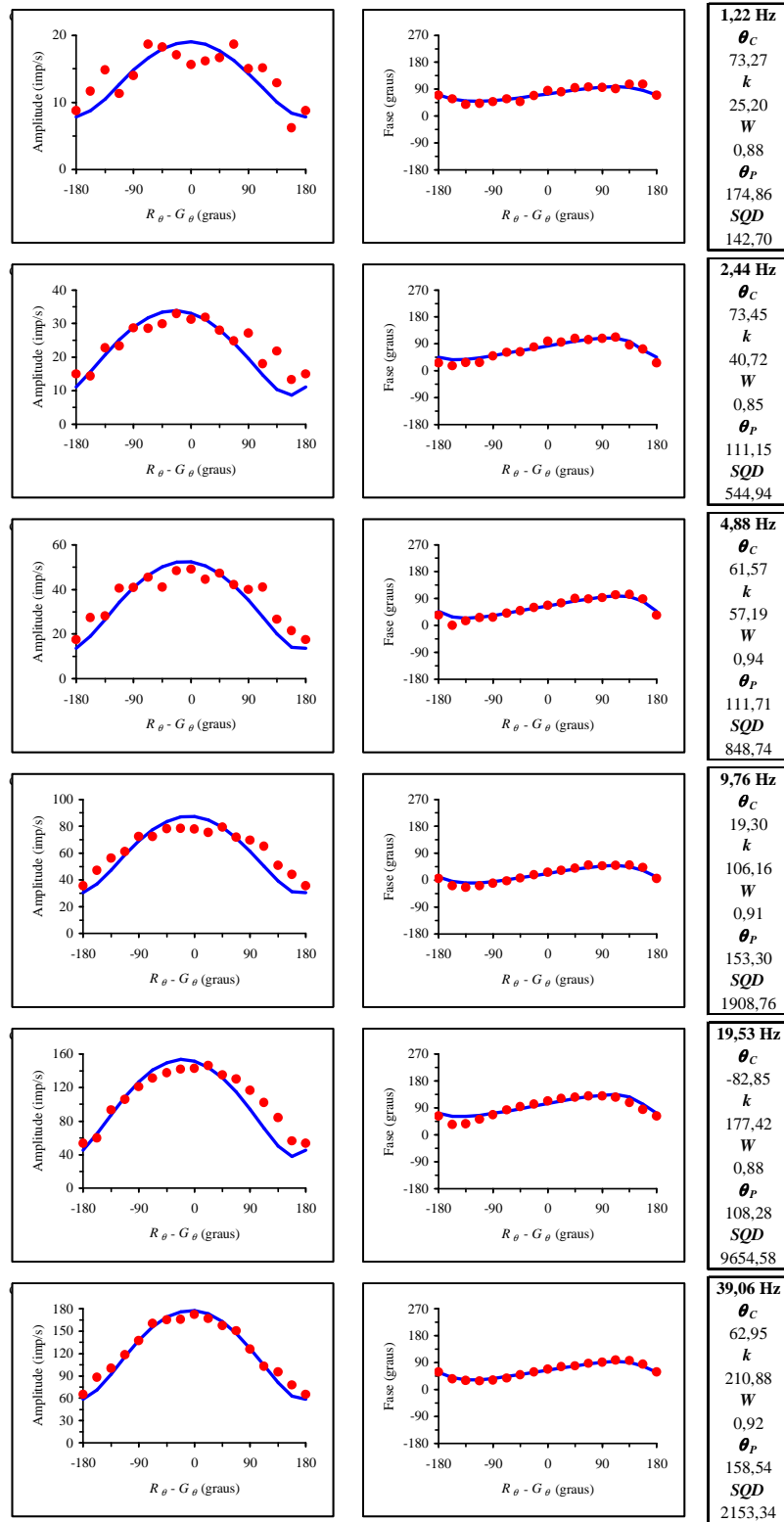


Figura 47. Amplitude e fase das respostas da célula fásica *on* de *Cebus* da Figura 46 para o protocolo de fase nas frequências temporais de estimulação, sob a condição de iluminância retiniana de 2000 Td. A linha azul é o modelo matemático interpolado considerando um fotorreceptor M/L com $\lambda_{max} = 563$ nm. Os parâmetros estão discriminados nas tabelas à direita dos gráficos. A amplitude da resposta aumentou com a frequência temporal em todas as condições. A fase ficou com um perfil mais horizontal em todas as frequências temporais indicando uma maior sensibilidade ao LED vermelho.

3.3.3 *Aotus infulatus*

As respostas das células ganglionares do *Aotus*, tanto as fásicas quanto as tônicas, responderam de modo similar ao protocolo de fase, assemelhando-se as respostas observadas em *Cebus* dicromatas. Para o modelamento das respostas, foram adotadas as mesmas condições daquelas empregadas na fotometria com *flicker* heterocromático. Então, a resposta da célula ganglionar tanto tônica quanto fásica do *Aotus* foi modelada como a resultante das repostas dos fotorreceptores cones com $\lambda_{max}=543$ nm e dos bastonetes.

A Figura 48 mostra as respostas de uma célula fásica *on*, encontrada no animal Ai02♂, para o protocolo de fase. A frequência temporal empregada foi de 19,53 Hz e a iluminância retiniana, 2000 Td. A amplitude sofreu pouca variação com o decorrer do teste, quando comparada com a fase; esta última acompanhou a mudança linear de fase sofrida pelo LED verde. Portanto, o fotorreceptor presente na retina deste primata é mais sensível ao LED verde do que ao vermelho, condizente com os resultados obtidos pela fotometria com *flicker* heterocromático e aqueles obtidos por Jacobs e colaboradores (Jacobs *et al.*, 1993; Jacobs *et al.*, 1996). A figura 49 mostra a amplitude e a fase da resposta dessa célula em todas as frequências temporais do protocolo de fase. A amplitude da resposta aumentou com o aumento da frequência temporal, em todas as condições, exceto em 39,06 Hz onde apresentou uma grande queda. A fase da resposta manteve-se com um perfil diagonal, similar a fase da resposta esperada para os bastonetes (Figura 9F). O modelo matemático que foi interpolado à resposta está representado nos gráficos de amplitude e de fase pela linha azul. Em todas as frequências temporais, tanto a fase quanto a amplitude da resposta foram bem aproximadas pelo modelo matemático, apesar dos valores de amplitude da resposta terem sido mais dispersos. O índice de contribuição dos cones e dos bastonetes para a resposta, W , ficou abaixo de 0,5 exceto para a última frequência temporal de 39,06 Hz, onde alcançou o valor de 0,64. Essa célula foi mais dominada por bastonetes do que as células previamente mostradas para o *Alouatta* e o *Cebus*.

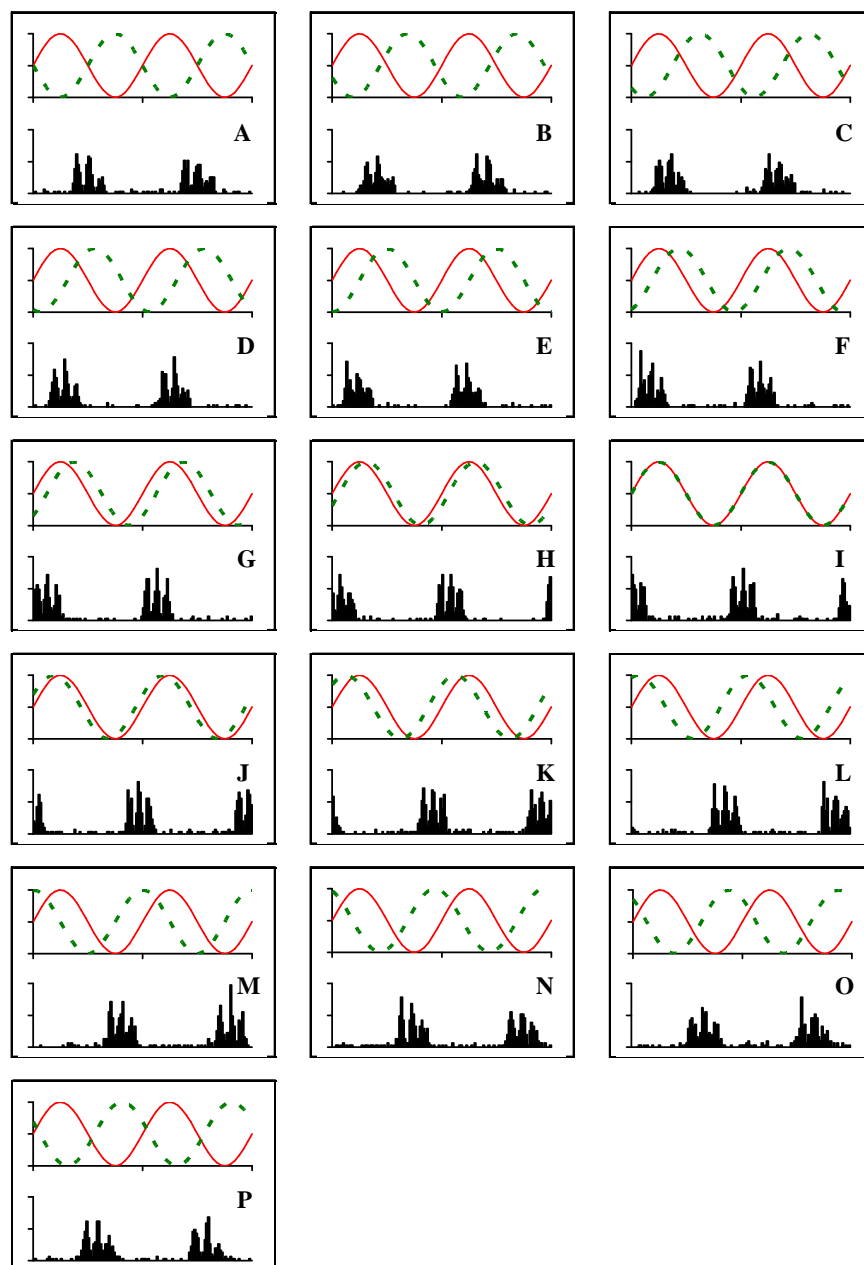


Figura 48. Histogramas das respostas de uma célula ganglionar fásica *on* do *Aotus* para o protocolo de fase. O fotorreceptor M/L do animal foi classificado como o de $\lambda_{ma} = 543$ nm. Frequência de estimulação: 19,53 Hz. Abscissa do histograma: 102,4 ms. Ordenada do histograma: 300 imp/s. Iluminância retiniana: 2000 Td.

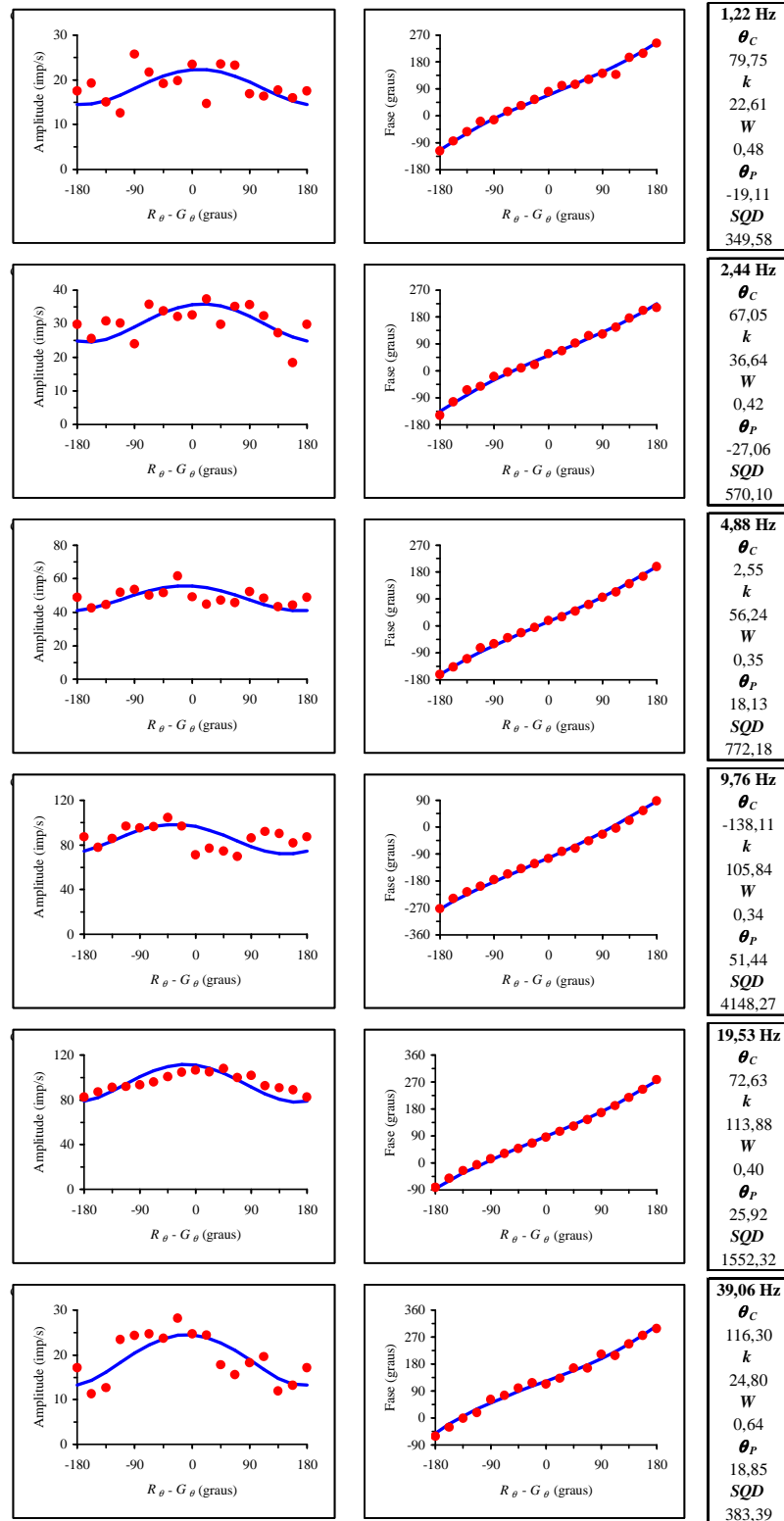


Figura 49. Amplitude e fase das respostas da célula física *on* do *Aotus*, para o protocolo de fase. A iluminância retiniana usada foi de 2000 Td. A linha azul é o modelo matemático interpolado considerando um fotorreceptor M/L de $\lambda_{max}=543$ nm. A amplitude da resposta aumentou com a frequência temporal em todas as condições, exceto para 39,06 Hz. A fase ficou com um perfil diagonal em todas as frequências temporais testadas, indicativo de uma maior sensibilidade da célula ao LED verde do que ao LED vermelho.

4 DISCUSSÃO

4.1 REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO UNITÁRIO DE CÉLULAS GANGLIONARES RETINIANAS COMO FERRAMENTA PARA O ESTUDO DO SISTEMA VISUAL

A técnica empregada no presente trabalho, o registro extracelular unitário de células ganglionares na retina *in vivo*, é uma abordagem, dentre várias possíveis, para o estudo da neurofisiologia do sistema visual. Em comparação com a técnica de registros extracelulares unitários *in vivo* no LGN, bastante usada para o estudo das vias visuais em antropóides, o registro retiniano *in vivo* é desvantajoso quanto à classificação funcional das células estudadas, especialmente em platirríneos dicromatas, nos quais a presença do polimorfismo sexual para a visão de cores dificulta essa classificação (e.g. YEH *et al.*, 1995). No tálamo, é comumente realizada a marcação eletrolítica da célula após o registro e, através da visualização *post-mortem* do local de marcação nas camadas do LGN (com coloração de Nissl, por exemplo), aliada à análise da resposta unitária para estímulos de luminância e cromáticos, consegue-se classificar a célula em M ou P com uma grande chance de acerto (MARTIN, 2004). A grande desvantagem do registro no LGN é a instabilidade mecânica inerente ao método.

Os registros na retina são mecanicamente mais estáveis quando comparados com aqueles realizados no LGN. Isso ocorre graças ao uso de agentes farmacológicos inibidores dos movimentos oculares involuntários. Neste estudo, o uso de um aro metálico preso ao redor do globo ocular e fixo no sistema de contenção craniana, diminuiu de modo considerável quaisquer vibrações mecânicas que poderiam dificultar e até mesmo impossibilitar o registro extracelular. Esse procedimento tem sido usado extensivamente no estudo das propriedades temporais, espaciais e espectrais das células ganglionares de primatas catarríneos (Veja LEE, 2004 para uma revisão a respeito) e, mais recentemente, platirríneos (LEE *et al.*, 2000).

Uma outra abordagem é a técnica de registro eletrofisiológico *in vitro* de células retinianas. Nesse caso, o registro é efetuado na retina inteira, dissecada do globo ocular, e mantida viva por meio de uma infusão constante de solução fisiológica modificada. Com o emprego de micropipetas para registros e/ou marcações intracelulares é possível, além de registrar a célula, injetá-la com corantes para posterior revelação de sua morfologia, o que usualmente facilita a sua classificação fisiológica. É importante ressaltar que essa técnica não fica limitada ao estudo das células ganglionares, pois por ser uma técnica de registro intracelular, outras células da retina também podem ser estudadas, mesmo aquelas que não

disparem potencial de ação. Vários tipos celulares na retina de humanos (e.g. DACEY & PETERSEN, 1992) e antropóides não-humanos (e.g. DACEY & LEE, 1994) e vertebrados inferiores (e.g. AGUIAR *et al.*, 2006) têm sido estudados morfológica e/ou funcionalmente mediante o uso desse método e variantes.

Uma forma de facilitar a classificação eletrofisiológica das células ganglionares retinianas com o método do registro unitário extracelular *in vivo* é pela medição da latência da condução antidrômica, a qual consiste em inserir com o auxílio de coordenadas estereotáxicas, eletrodos de estimulação no quiasma óptico. No *Macaca*, esse procedimento constitui um meio confiável de distinguir as células M das P, e as latências antidrômicas formam uma distribuição bicaudal com picos separados: a latência antidrômica média das células M é de aproximadamente 5 ms e das células P é de 8-11 ms (Martin *et al.*, 2001). Como a anatomia retiniana dos catarríneos e dos platirríneos são bastante similares, pode-se esperar que uma clara dicotomia possa ser obtida com essas medidas antidrômicas nos platirríneos e, assim, permitir uma identificação celular inequívoca tanto em indivíduos tricromatas quanto em dicromatas. Tal procedimento, porém, não foi empregado presentemente e estudos posteriores poderão verificar se, de fato, essa dicotomia entre as células M e P se mantém nos platirríneos.

4.2 CLASSIFICAÇÃO FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS GANGLIONARES

O trabalho pioneiro de Kuffler que analisou a taxa de disparos de potenciais de ação em células ganglionares na retina de coelho para estímulos luminosos, encontrou que os campos receptivos das células exibiam um antagonismo espacial centroperiferia. Para pulsos temporais que incidiam somente no centro do campo receptivo, as células que respondiam eram classificadas como células *on*; as células que eram inibidas pelos pulsos eram classificadas como células *off* (KÜFFLER, 1953).

Dezesseis anos depois, em 1968, Peter Gouras registrou células ganglionares do *Macaca* e as classificou em dois tipos de acordo com a duração da resposta ao estímulo luminoso: fásica, para células que mostraram uma rápida descarga de potenciais de ação mesmo para estímulos prolongados; e tônica, para células que apresentaram uma descarga de potenciais de ação que era mantida com a duração do estímulo. Dacey e Lee, em 1994, mostraram na retina do *Macaca* que as células com resposta fásica e tônica correspondem, respectivamente, às classes morfológicas de células ganglionares M e P; mostraram também que as células ganglionares com campos receptivos *on* e *off* correspondem as células M e P

que estratificam nas lamelas internas e externas da camada plexiforme interna, respectivamente (DACEY & LEE, 1994).

Essas classes celulares, M e P, têm sido encontradas e caracterizadas por estudos morfológicos na retina do *Cebus*, *Aotus* e do *Alouatta*, apresentando uma grande semelhança com primatas do Velho Mundo, como o *Macaca*, no que concerne à presença dos mesmos tipos celulares na retina (Ver SILVEIRA *et al.*, 2003, para uma revisão sobre o assunto). Os resultados deste trabalho são semelhantes a estudos anteriores na retina de *Cebus* dicromatas (LEE *et al.*, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2000) e na retina (SILVEIRA *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001) e no LGN (USREY & REID, 2000; KILAVIK *et al.*, 2001; XU *et al.*, 2001) de *Aotus* e estão de acordo com os achados morfológicos, corroborando que a classificação fisiológica das células ganglionares da retina em *on* ou *off* e fásicas ou tônicas proposta inicialmente para antropóides do Velho Mundo também pode ser extrapolada para antropóides do Novo Mundo.

4.3 A PROVÁVEL TRICROMACIA DO ALOUATTA

O *Alouatta* possui um sistema visual com uma característica intrigante: semelhante ao *Aotus*, o *Alouatta* não segue o padrão de polimorfismo sexual de visão de cores encontrado em outros platirríneos (JACOBS *et al.*, 1996). Porém, esse gênero não é monocromata e noturno, como o *Aotus*. O *Alouatta* possui hábitos diurnos e aparenta ser tricromata. É um antropóide herbívoro, consumindo folhas e frutos na copa das árvores.

Os resultados de experimentos eletrorretinográficos conduzidos nesses animais, liderados por Gerald Jacobs, mostram que não há diferenças de sensibilidade espectral entre os indivíduos machos e fêmeas (JACOBS *et al.*, 1996). Esse estudo foi o primeiro a indicar a presença de dois fotorreceptores M e L na retina desse antropóide, resultado esse validado posteriormente por um estudo genético (DULAI *et al.*, 1999).

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com esses estudos supracitados: as células tônicas do *Alouatta* são responsivas a estímulos cromáticos e suas respostas puderam ser modeladas como uma soma de dois fotorreceptores M e L, com picos de absorção espectral em, respectivamente, 530 nm e 562 nm, valores adotados a partir do trabalho de Jacobs *et al.*, 1996a.

4.4 DETERMINAÇÃO DO FOTORRECEPTOR M/L PRESENTE NA RETINA DE *CEBUS* DICROMATAS

Os protocolos de fase e de fotometria com *flicker* heterocromático têm sido usados para determinar o fotorreceptor M/L presente em antropóides do Novo Mundo, nas células ganglionares da retina de *Cebus* (LEE *et al.*, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2000) como nas células do LGN de *Callithrix jacchus* (YEH *et al.*, 1995). Em ambos os trabalhos, usando macacos dicromatas e tricromatas, foi possível definir a partir da resposta fisiológica o fotorreceptor M/L presente na retina desses primatas, sendo que o fenótipo encontrado eletrofisiologicamente foi confirmado *a posteriori* através de genética molecular e/ou através de microespectrofotometria (Lee *et al.*, 2000).

No presente estudo, usando essa mesma abordagem fisiológica, foi possível identificar qual o fotorreceptor M/L presente na retina tanto do indivíduo macho quanto da fêmea de *Cebus*. Os valores dos picos de absorção dos fotorreceptores que foram usados neste trabalho foram os mesmos usados por Lee e colaboradores para um estudo anterior das células ganglionares de *Cebus* dicromatas e tricromatas (LEE *et al.*, 2000). O *Cebus* macho, apresentou um fotorreceptor M/L com λ_{max} de 535 nm. A fêmea de *Cebus*, que tinha uma grande chance de ser tricromata (> 60%), apresentou somente um fotorreceptor M/L com λ_{max} de 563 nm. Este resultado pode ser verificado, comparando as respostas obtidas em ambos os paradigmas, com os modelos matemáticos das respostas esperadas pelos fotorreceptores com os picos de absorção espectral descritos acima. Para a fotometria com *flicker* heterocromático, a razão entre os LEDs que provoca uma resposta mínima da célula pode ser usada diretamente para prever o fotorreceptor para um animal dicromata. Para o paradigma de fase, o perfil da amplitude e da fase da resposta são indicadores do fotorreceptor presente, com duas vantagens sobre o método anterior: a fase da resposta é uma medida mais robusta, mesmo quando a amplitude da resposta esteja baixa; e a definição do fotorreceptor é feita usando todos os valores registrados ao invés de somente um valor de mínimo da resposta, como no protocolo da fotometria com *flicker* heterocromático.

Como um teste adicional para a validação dos fotorreceptores encontrados, tentou-se usar modelos matemáticos provenientes de fotorreceptores M/L com λ_{max} diferentes daqueles originalmente aplicados. Por exemplo, para o fenótipo de 563 nm foi tentada a interpolação da resposta com os modelos dos fotorreceptores de 535 nm ou de 548 nm, ambos fotorreceptores possíveis de estarem presentes (individualmente) na retina deste *Cebus*. Para todas as células estudadas, o valor da soma dos quadrados das diferenças (SQD) obtido com qualquer um dos fotorreceptores de 535 nm ou de 548 nm, foi maior do que o valor obtido para o fotorreceptor originalmente proposto (563 nm), para todas as condições de teste e para

os dois protocolos de estimulação. Para o outro *Cebus*, o macho com fotorreceptor M/L de $\lambda_{max}=535$ nm, todas as células estudadas, para todas as condições de teste e para ambos os paradigmas, mostraram um aumento no SQD quando interpoladas com o modelo para fotorreceptor M/L de $\lambda_{max}=563$ nm; quando interpoladas com um fenótipo de 548 nm, algumas células apresentaram uma pequena diminuição do SQD, porém retornaram valores inválidos para os parâmetros encontrados pelo método da interpolação. Isto foi observado para alguns registros do paradigma de fotometria com *flicker* heterocromático e foi interpretado como uma convergência errônea do algoritmo para fotorreceptores que apresentem uma sensibilidade próxima ao fotorreceptor real. Ambos os fotorreceptores M/L com $\lambda_{max}=535$ nm e $\lambda_{max}=563$ nm possuem uma maior sensibilidade ao LED verde do que ao LED vermelho. Graças a esta semelhança qualitativa na sensibilidade, o perfil de amplitude dos dois fotorreceptores para o paradigma de fotometria com *flicker* heterocromático são mais parecidos entre si, do que com o perfil do fotorreceptor de $\lambda_{max}=563$ nm.

4.5 APLICAÇÃO DOS PARADIGMAS DE FOTOMETRIA COM *FLICKER* HETEROCROMÁTICO E DO PARADIGMA DE FASE PARA ESTUDAR AS CÉLULAS GANGLIONARES DO *AOTUS*

Estudos comportamentais, eletrofisiológicos com potenciais de massa (eletrorretinograma, ERG) e a análise genética confirmaram que o *Aotus*, o único antropóide noturno vivo, é monocromata (JACOBS *et al.*, 1993; JACOBS *et al.*, 1996) com somente um fotorreceptor M/L funcional, com $\lambda_{max}=543$ nm. Mesmo os cones S, cujo gene é autossômico, não são expressos por este primata. O *Aotus* possui um gene para o fotorreceptor S que é homólogo ao encontrado em humanos mas esse gene possui uma mutação genética que impede a sua expressão (JACOBS *et al.*, 1996). Os presentes resultados mostram que a resposta da célula ganglionar do *Aotus* para os paradigmas propostos pode ser modelada de maneira análoga como foi realizada para o *Cebus*, considerando uma interação entre um fotorreceptor cone M/L, com um pico de absorção espectral em 543 nm, e um fotorreceptor bastonete com $\lambda_{max}=500$ nm (SILVEIRA *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001).

Um estudo recente de Jacobs & Deegan II, 2003, usando ERG encontrou um valor ligeiramente diferente (544,65 nm) para o λ_{max} do fotorreceptor M/L presente na retina do *Aotus* (JACOBS & DEEGAN II, 2003). Um modelo matemático usando esse fotorreceptor foi testado, mas de acordo com observações prévias usando variações de poucos nanômetros nos picos de absorção espectral dos fotorreceptores, não houve mudanças significativas nos

resultados pois os valores da sensibilidade do fotorreceptor aos LEDs verde e vermelho sofrem pouca alteração (Lee, comunicação pessoal).

4.6 EFEITO DA FREQUÊNCIA TEMPORAL NA CONTRIBUIÇÃO DOS CONES E BASTONETES PARA A RESPOSTA DA CÉLULA GANGLIONAR

Estudos fisiológicos anteriores mostraram a contribuição dos sinais de cones e de bastonetes para a resposta de células ganglionares da retina de antropóides do Velho e do Novo Mundo (*Macaca*: Gouras & Link, 1966; Lee *et al.*, 1997; *Cebus*: Lee *et al.*, 2000; Silveira *et al.*, 2000; *Aotus*: Silveira *et al.*, 2000; Saito *et al.*, 2001) e no LGN de antropóides do Novo Mundo (*Callithrix jacchus*: Weiss *et al.*, 1998; Yeh *et al.*, 1995; *Aotus*: Kilavik *et al.*, 2001). Na retina de *Macaca*, os resultados mostraram uma alta contribuição de sinais de bastonetes somente para as células fásicas sendo esta contribuição mais visível em baixas condições de iluminância retiniana, cerca de 20 Td (Lee *et al.*, 1997).

As células do LGN de *Callithrix*, apresentaram respostas com alta contribuição de bastonetes tanto para as células M, quanto para as células P (Yeh *et al.*, 1995). O trabalho de Weiss *et al.*, em 1998, também apresentou células M e P do LGN de *Callithrix* com uma alta contribuições de bastonetes mesmo sob altas iluminâncias; em excentricidades superiores a 20 graus, as células M recebem uma maior interação dos bastonetes que as células P na mesma excentricidade. As células registradas no LGN do *Aotus* mostraram uma maior dominação por bastonetes do que por cones (Kilavik *et al.*, 2001).

Não foram encontradas evidências dessa forte contribuição dos bastonetes no *Alouatta*. As respostas desse antropóide puderam ser estudadas e modeladas como sendo o produto unicamente de dois fotorreceptores cones M e L.

Na retina de *Cebus*, Lee e colaboradores encontraram células ganglionares M com alta contribuição de bastonetes (baixo índice de interação cone-bastonete), mesmo sob 2000 Td. Apesar de não ter sido possível um estudo semelhante para as células P da retina de *Cebus*, estas evidências da retina e do LGN de antropóides do Novo Mundo são contrastantes com os achados na retina de primatas catarríneos. Silveira e colaboradores, em 2001, mostraram que as células da retina do *Aotus* também são fortemente dominadas por bastonetes (Silveira *et al.*, 2001) mesmo sob altas condições de iluminância retiniana e em altas frequências temporais. Os resultados do presente trabalho também concordam com uma diferença entre a contribuição dos cones e dos bastonetes nas células ganglionares retinianas de antropóides platirríneos e catarríneos, os primeiros apresentando uma maior contribuição dos bastonetes à reposta celular mesmo sob altas condições de iluminância retiniana,

especialmente o *Aotus*. Com o aumento da frequência temporal, ocorre um aumento dos valores dos índices de interação cone-bastonete, o que pode ser atribuído a uma maior contribuição dos cones para a resposta da célula, em concordância com a maior resolução temporal dos cones (MacLeod, 1972).

4.7 POR QUAL VIA PARALELA O SINAL DO BASTONETE CHEGA NA CÉLULA GANGLIONAR?

Estudos psicofísicos (Sharpe *et al.*, 1989) e fisiológicos (Stockman *et al.*, 1995) associaram a via de bastonetes através da bipolar de bastonete e da amácrina AII, como uma via lenta de resposta, enquanto que a via de bastonete através de junções comunicantes e as bipolares de cones, como uma via rápida de resposta de bastonete. A condição de qual via é usada depende da iluminância ambiente: um valor de iluminância abaixo de 1 Troland escotópico, ativa a via lenta e valores acima ativam a via rápida. Este valor limite está muito abaixo daqueles usados no presente estudo. Portanto, os sinais dos bastonetes devem ter se propagado através da via rápida das bipolares dos cones, para então convergirem até as células ganglionares.

4.8 A EVOLUÇÃO DA VISÃO DE CORES NOS ANTROPÓIDES CATARRÍNEOS E PLATIRRÍNEOS

Postula-se que dois passos foram necessários para a evolução da tricromacia, do modo como ela é encontrada nos catarríneos (MOLLON, 1991). O primeiro passo foi uma duplicação gênica da opsina do cone, normalmente encontrado no cromossomo X de todos os mamíferos. Posteriormente, deve ter ocorrido uma mutação pontual para mudar a absorção espectral das opsinas e, assim, gerar uma sensibilidade espectral diferente. De acordo com Mollon (1991), existem três possíveis cenários para a evolução da visão de cores nos platirríneos e nos catarríneos:

- 1) Os dois grupos evoluíram a tricromacia separadamente;
- 2) O padrão de visão de cores dos platirríneos é a forma ancestral. Uma mutação pontual na população produziu múltiplas opsinas, e então o padrão dos antropóides do Velho Mundo evoluiu por um processo de duplicação gênica, como no *Alouatta*.
- 3) Uma duplicação gênica ocorreu, e então uma (ou mais) mutação pontual gerou o modelo encontrado nos antropóides do Velho Mundo. Esse é uma ocorrência evolucionária comum. Nesse cenário, os platirríneos teriam perdido a tricromacia completa, visto que essa perda de tricromacia é comum entre os não-mamíferos, e é usualmente

associada com um período noturno em sua evolução (MARTIN, 1990). Os platirríneos teriam adotado o seu padrão atual quando a tricromacia tornou-se vantajosa novamente.

Hunt e colaboradores (1998), baseados em uma análise cladística das seqüências genéticas das opsinas, sugeriram que uma evolução independente da tricromacia nos catarríneos e nos platirríneos parece ser o caso, ou seja, alternativa número 1. Entretanto, a anatomia e a fisiologia das retinas dos antropóides do Velho Mundo e dos platirríneos mostram uma alta similaridade entre si. Algumas dessas características estão associadas com a tricromacia e acredita-se que uma evolução paralela de tais similaridades é improvável (LEE *et al.*, 2000), i.e., uma das outras alternativas (2 ou 3) pode ser a verdadeira. O argumento acima foi corroborado por uma recente descoberta de que duas espécies de prosímios mostram também polimorfismo sexual no fotopigmento M/L, como nos platirríneos, o que implica que as características retinianas associadas com a tricromacia originaram-se antes do que se pensava na evolução dos primatas (TAN & LI, 1999).

A tricromacia e o polimorfismo de opsinas não foram encontrados em nenhum outro mamífero. A razão para tal ausência é incerta, mas pode ser melhor estudada com a delimitação do porquê a tricromacia é única nos primatas. Se o desenvolvimento da tricromacia somente necessita de uma mutação pontual para originar o padrão encontrado nos antropóides do Novo Mundo, a presença de tricromacia deveria ser mais comum em outros mamíferos. É possível que o desenvolvimento único nos primatas tenha exigido tanto o desenvolvimento de múltiplas opsinas quanto da presença de substratos anatômicos e fisiológicos para a utilização da tricromacia.

Para que a presença de duas opsinas M/L seja efetivamente usada, é necessário que os mecanismos pós-receptorais sejam capazes de diferenciar seus sinais. Wässle e Boycott (1991) sugeriram que uma via visual ancestral de alta resolução pôde ter posteriormente evoluído para processar sinais cromáticos. Nessa via hipotética, o tamanho dos centros dos campos receptivos poderia subentender poucos cones de modo que, por chance, algumas células poderiam responder “dominadas” por um simple cone; as células com uma substancial convergência de cones não poderiam diferenciar o sinal de múltiplas opsinas. As vantagens fornecidas por esse sistema primitivo de oponência verde-vermelho puderam, então, ter fornecido uma pressão seletiva para um refinamento posterior, como, por exemplo, em direção a campos receptivos com centros subentendendo um simple cone, semelhante às células P. Alguns autores (MARTIN, 1990) sugerem que os primatas ancestrais foram noturnos. A adaptação para uma vida noturna levou a uma diminuição da densidade de cones em relação aos bastonetes, como no *Aotus* (WIKLER & RAKIC, 1990; YAMADA *et al.*,

2001) e no *Galago* (WIKLER & RAKIC, 1990; YAMADA *et al.*, 1998), e esse fato poderia também ter favorecido uma baixa convergência de cones para células com um pequeno campo receptivo. Em qualquer um desses eventos, alguma combinação especial de circunstâncias favoreceu um desenvolvimento da tricromacia somente nos primatas e não em qualquer outro grupo de mamíferos. Entretanto, em um estudo recente, Jacobs e colegas conseguiram que camundongos expressassem, além do fotorreceptor M, um fotorreceptor L, em cones diferentes através de engenharia genética (Jacobs *et al.*, 2007). Os resultados de testes comportamentais sugerem que o sistema visual desses camundongos é plástico o suficiente para usar essa nova informação cromática e que toda a circuitaria neural necessária para uma visão tricromática já está presente nesses mamíferos (Jacobs *et al.*, 2007).

5 CONCLUSÃO

Foi possível registrar, *in vivo*, a atividade das células ganglionares retinianas do *Alouatta*, *Cebus* e *Aotus* e classificá-las eletrofisiologicamente como células fásicas e tônicas, a partir de suas respostas aos pulsos de luminância e de cor, o que sugere que, apesar de possuírem um modo de vida diferente, o *Alouatta* e o *Cebus* (diurnos) juntamente com o *Aotus* (noturno) compartilham uma microcircuitaria retiniana contendo elementos neurais semelhantes, provavelmente originados em um primata ancestral comum.

Em todos os platirríneos estudados, as células fásicas apresentaram um mecanismo de controle de ganho de contraste, enquanto as células tônicas, não. Além disso, uma comparação entre a Função de Transferência de Modulação Temporal (FTMT) obtida tanto nas células ganglionares fásicas quanto tônicas, também mostrou que para todos os platirríneos estudados, existe uma dicotomia funcional entre essas duas classes: as células fásicas foram mais sensíveis aos estímulos de luminância do que as tônicas; no *Alouatta*, essas últimas foram mais sensíveis aos estímulos cromáticos do que aos de luminância.

O *Alouatta* possui células ganglionares classificadas fisiologicamente como fásicas (M) ou tônicas (P) na sua retina, e estas últimas apresentam oponentia cromática em seu campo receptivo. Portanto, o *Alouatta* possui todo o substrato fisiológico em sua retina para a transmitir informações sobre contraste de cores para áreas superiores de processamento cortical. Somente estudos psicofísicos em indivíduos desse gênero podem esclarecer se esse animal faz uso dessas informações (e.g. como o estudo feito em *Callithrix* com uma adaptação do Teste de Mollon-Reffin, Mancuso *et al.*, 2006).

A variação da contribuição dos cones e dos bastonetes para a resposta celular ao longo das frequências temporais encontrada nas células ganglionares da retina de *Aotus*, bem como a sua sensibilidade à iluminação ambiente, sugerem que a retina deste primata evoluiu para trabalhar em um ambiente noturno, maximizando a sensibilidade à luminância de suas células, provavelmente às custas de uma precisão espacial menor, pois suas células ganglionares são maiores do que as do *Cebus* em todas as excentricidades retinianas (SILVEIRA *et al.*, 2003). Um estudo morfológico mostra que existe uma maior convergência de bastonetes para as células ganglionares do *Aotus* do que para as células ganglionares do *Cebus* e, por outro lado, a convergência de cones é bem similar para ambos os primatas (YAMADA *et al.*, 2001). Os resultados do presente trabalho, mostrando a presença de células ganglionares com um baixo valor do índice de contribuição dos cones e dos bastonetes na retina do *Aotus* é um indicativo fisiológico de que a convergência de bastonetes para as células ganglionares deste primata é maior do que nos primatas diurnos, *Alouatta* e *Cebus*.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, M.J.L.; VENTURA, D.F.; DA SILVA FILHO, M.; SOUZA, J.M.; MACIEL, R.; LEE, B.B. Response of carp (*Cyprinus carpio*) horizontal cells to heterochromatic flicker photometry. **Visual Neuroscience**, v. 23, p. 437-440, 2006.

ANDRADE DA COSTA, B.L.; HOKOÇ, J.N. Photoreceptor topography of the retina in the New World monkey *Cebus apella*. **Vision Research**, v. 40, p. 2395-2409, 2000.

ARVO (The Association for Research in Vision & Ophthalmology). **Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Visual Research**. Disponível em: <<http://www.arvo.org/eweb/dynamicpage.aspx?site=arvo2&webcode=AnimalsResearch>>. Último acesso em 01 de outubro de 2006.

BARLOW, H.B. Summation and inhibition in the frog's retina. **Journal of Physiology (London)**, v. 119, p. 69-88, 1953.

BARLOW, H.B. Possible principles underlying the transformation of sensory messages. In: ROSENBLITH, W. (ed.). **Sensory Communication**, p. 217-234. Cambridge, Massachusetts, U.S.A.: MIT press, 1961. 844 pp.

BENARDETE, E.A.; KAPLAN, E.; KNIGHT, B.W. Contrast gain control in the primate retina: P cells are not X-like, some M cells are. **Visual Neuroscience**, v. 8, p. 483-486, 1992.

BONE R.A.; LANDRUM, J.T.; CAINS, A. Optical density spectra of the macular pigment in vivo and in vitro. **Vision Research**, v. 32, p. 105-110, 1992.

BOWMAKER, J.K. The evolution of vertebrate visual pigments and photoreceptors. In: CRONLY-DILLON, J.R., GREGORY, R.L. (eds.). **Vision and Visual Dysfunction - Evolution of the Eye and Visual System**, v. 2, p. 63-81. Houndmills, England: MacMillan Press, 1991a. 493 pp.

BOWMAKER, J.K. Visual pigments, oil droplets and photoreceptors. In: GOURAS, P. (ed.). **Vision and Visual Dysfunction - The Perception of Colour**, v. 6, p. 108-127. Houndmills, England: MacMillan Press, 1991b.

BOYCOTT, B.B.; DOWLING, J.E. Organization of the primate retina: light microscopy. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 255, p. 109-184, 1969.

BOYCOTT, B.B.; WÄSSLE, H. Morphological classification of bipolar cells of the primate retina. **European Journal of Neuroscience**, v. 3, p. 1069-1088, 1991.

BURNS, S.A.; ELSNER, A.E. Color matching at high illuminances: the color-match-area effect and photopigment bleaching. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 2, p. 698-704, 1985.

CALLAWAY, E.M. Structure and function of parallel pathways in the primate early visual system. **Journal of Physiology (London)**, v. 566, p. 13-19, 2005.

CHATTERJEE, S.; CALLAWAY, E.M. Parallel colour-opponent pathways to primary visual cortex. **Nature**, v. 426, p. 668-671, 2003.

COOLEY, J.W.; TUKEY, J.W. An algorithm for machine calculation of complex Fourier series. **Mathematics of Computation**, v. 19, p. 297-301, 1965.

CRONER, L.J.; KAPLAN, E. Receptive fields of P and M ganglion cells across the primate retina. **Vision Research**, v. 35, p. 7-24, 1995.

DACEY, D.M.; PETERSEN, M.R. Dendritic field size and morphology of midget and parasol ganglion cells of the human retina. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 89, p. 9666-9670, 1992.

DACEY, D.M.; LEE, B.B. The “blue-on” opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. **Nature**, v. 367, p. 731-735, 1994.

DACEY, D.M. Primate retina: cell types, circuits and colour opponency. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 18, p. 737-763, 1999.

DACEY, D.M.; PETERSON, B.B.; ROBINSON, F.R. Identification of an S-cone opponent OFF pathway in the macaque monkey retina: morphology, physiology and possible circuitry. **ARVO Annual Meeting Abstract Search and Program Planner**, Program N^o 3796, 2002.

DACEY, D.M.; PETERSON, B.B.; ROBINSON, F.R.; GAMLIN, P.D. Fireworks in the primate retina: in vitro photodynamics reveals diverse LGN-projecting ganglion cell types. **Neuron**, v. 37, p. 15-27, 2003.

DACEY, D.M.; LIAO, H.W.; PETERSON, B.B.; ROBINSON, F.R.; SMITH, V.C.; POKORNY, J.; YAU, K.W.; GAMLIN, P.D. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. **Nature**, v. 433, p. 749-754, 2005.

da SILVA FILHO, M.; SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; SAITO, C.A.; KILAVIK, B.E. Propriedades temporais das células ganglionares do macaco-da-noite. **Resumos da XV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**, p. 281, 2000.

da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; BOWMAKER, J.K.; KREMERS, J.; SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L. Physiological evidence for fully developed trichromacy in howler monkeys. **Abstracts of Structure, Function and Evolution of the Primate Visual System - PRIMAVISION**, p. 52, 2003.

DAVENPORT, T.R.B.; STANLEY, W.T.; SARGIS, E.J.; de LUCA, D.W.; MPUNGA, N.E.; MACHAGA, S.J.; OLSON, L.E. A new genus of African monkey, *Rungwecebus*: morphology, ecology, and molecular phylogenetics. **Science**, v. 312, p. 1378-1381, 2006.

DeBRUYN, E.J.; WISE, V.L.; CASAGRANDE, V.A. The size and topographic arrangement of retinal ganglion cells in the galago. **Vision Research**, v. 20, p. 315-327, 1980.

de LIMA, S.M.A. **Distribuição das Células Ganglionares M em Retinas de Primatas Diurnos e Noturnos**. Dissertação de Mestre em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 1993. 147 pp.

de LIMA, S.M.A.; SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. The M-ganglion cell density gradient in New World monkeys. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 961-4, 1993.

de LIMA, S.M.A.; SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. Distribution of M retinal ganglion cells in diurnal and nocturnal New-World monkeys. **Journal of Comparative Neurology**, v. 368, p. 538-552, 1996.

de MONASTERIO, F.M.; GOURAS, P. Functional properties of ganglion cells of the rhesus monkey retina. **Journal of Physiology (London)**, v. 251, p. 167-195, 1975.

de MONASTERIO, F.M.; GOURAS, P.; TOLHURST, D.J. Trichromatic colour opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. **Journal of Physiology (London)**, v. 251, p. 197-216, 1975a.

de MONASTERIO, F.M.; GOURAS, P.; TOLHURST, D.J. Concealed colour opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. **Journal of Physiology (London)**, v. 251, p. 217-229, 1975b.

de MONASTERIO, F.M. Properties of concentrically organized X and Y ganglion cells of macaque retina. **Journal of Neurophysiology**, v. 41, p. 1394-1417, 1978a.

de MONASTERIO, F.M. Center and surround mechanisms of opponent-colour X and Y ganglion cells of retina of macaques. **Journal of Neurophysiology**, v. 41, p. 1418-1434, 1978b.

de MONASTERIO, F.M. Properties of ganglion cells with atypical receptive-field organization in retina of macaques. **Journal of Neurophysiology**, v. 41, p. 1394-1417, 1978c.

DOGIEL, A.S. Ueber die nervösen elemente in der retina des menschen. **Archiv für Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik**, v. 38, p. 317-344, 1891.

dos REIS, J.W.L.; de CARVALHO, W.A.; SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L. The morphology of horizontal cells in the retina of the capuchin monkey, *Cebus apella*: how many horizontal cell classes are found in dichromatic primates? **Journal of Comparative Neurology**, v. 443, p. 105-123, 2002.

dos SANTOS, S.N. **Análise Quantitativa da Morfologia das Células Horizontais de um Primata Noturno, o Macaco-da-noite (*Aotus sp.*)**. Tese de Doutor em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 2002. 142 pp.

dos SANTOS, S.N.; dos REIS, J.W.L.; da SILVA FILHO, M.; KREMERS, J.; SILVEIRA, L.C.L. Horizontal cell morphology in nocturnal and diurnal primates: a comparison between owl-monkey (*Aotus*) and capuchin monkey (*Cebus*). **Visual Neuroscience**, v. 22, p. 405-415, 2005.

DULAI, K.S., von DORNUM, M., MOLLON, J.D., HUNT, D.M. The evolution of trichromatic color vision by opsin gene duplication in New World and Old World primates. **Genome Research**, v. 9, 629-638, 1999.

ELSNER, A.E.; BURNS, S.A.; WEBB, R.H. Mapping cone photopigment optical density. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 10, p. 52-58, 1993.

ENROTH-CUGELL, C.; ROBSON, J. G. The contrast sensitivity of retinal ganglion cells of the cat. **Journal of Physiology (London)**, v. 187, p. 517-552, 1966.

FAMIGLIETTI JR., E.V.; KOLB, H. A bistratified amacrine cell and synaptic circuitry in the inner plexiform layer of the retina. **Brain Research**, v. 84, p. 293-300, 1975.

FLEAGLE, J.G. **Primate Adaptation and Evolution**. San Diego, California: Academic Press, 1988. 486 pp.

FRANCO, E.C.S.; FINLAY, B.L.; SILVEIRA, L.C.L.; YAMADA, E.S.; CROWLEY, J.C. Conservation of absolute foveal area in New World primates: a constraint on eye size and conformation. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 56, p. 276-286, 2000.

FRANCO, E.C.S. **Análise Comparativa da Distribuição e Número Total de Fotorreceptores em Seis Espécies de Primatas do Novo Mundo: Correlação com a Hipótese do Escalonamento Neuronal**. Dissertação de Mestre em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 2002. 108 p.

GHOSH, K.K.; GOODCHILD, A.K.; SEFTON, A.E.; MARTIN, P.R. The morphology of retinal ganglion cells in the New World marmoset monkey *Callithrix jacchus*. **Journal of Comparative Neurology**, v. 366, p. 76-92, 1996.

GOLDSMITH, T.H. The evolution of visual pigments and colour vision. In: GOURAS, P. (ed.). **Vision and Visual Dysfunction - The Perception of Colour**, v. 6, p. 62-89. Houndmills, England: MacMillan Press, 1991.

GOMES, F.L. **Densidade e Proporção das Células Ganglionares M e P na Retina do Saguí Comum, *Callithrix jacchus***. Dissertação de Mestre em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 2001. 137 p.

GOMES, F.L.; SILVEIRA, L.C.L.; SAITO, C.A.; YAMADA, E.S. Density, proportion, and dendritic coverage of retinal ganglion cells of the common marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 915-924, 2005.

GOODCHILD, A.K.; GHOSH, K.K.; MARTIN, P.R. A comparison of photoreceptor spatial density and ganglion cell morphology in the retina of human, macaque monkey, cat, and the marmoset *Callithrix jacchus*. **Journal of Comparative Neurology**, v. 366, p. 55-75, 1996.

GOURAS, P., LINK, K. Rod and cone interaction in dark adapted monkey ganglion cells. **Journal of Physiology (London)**, v. 184, p. 499-510, 1966.

GOURAS, P. Identification of cone mechanisms in monkey ganglion cells. **Journal of Physiology (London)**, v. 199, p. 533-547, 1968.

GRÜNERT, U.; MARTIN, P.R. Rod bipolar cells in the macaque monkey retina: immunoreactivity and connectivity. **Journal of Neuroscience**, v. 11, p. 2742-2758, 1991.

GRÜNERT, U. Anatomical evidence for rod input to the parvocellular pathway in the visual system of the primate. **European Journal of Neuroscience**, v. 9, p. 617-621, 1997.

HUBEL, D.H.; WIESEL, T.N. Receptive fields of optic nerve fibres in the spider monkey. **Journal of Physiology (London)**, v. 154, p. 572-580, 1960.

HUNT, D.M.; DULAI, K.S.; COWING, J.A.; JULLIOT, C.; MOLLON, J.D.; BOWMAKER, J.K.; LI, W.H.; HEWETT-EMMETT, D. Molecular evolution of trichromacy in primates. **Vision Research**, v. 38, p. 3299-3306, 1998.

HUNT, D.M.; JACOBS, G.H.; BOWMAKER, J.K. The genetics and evolution of primate visual pigments. In: KREMERS, J. (eds.). **The Primate Visual System**, p. 73-94. Chichester: John Wiley & Sons, 2005. 367 pp.

JACOBS, G.H.; NEITZ, J. Polymorphism of the middle wavelength cone in two species of South American monkey: *Cebus apella* and *Callicebus molloch*. **Vision Research**, v. 27, p. 1263-1268, 1987.

JACOBS, G.H.; DEEGAN II, J.F.; NEITZ, J.; CROGNALE, M.A.; NEITZ, M. Photopigments and colour vision in the nocturnal monkey, *Aotus*. **Vision Research**, v. 33, p. 1773-1783, 1993.

JACOBS, G.H.; NEITZ, M.; DEEGAN II, J.F.; NEITZ, J. Trichromatic colour vision in New World monkeys. **Nature**, v. 382, p. 156-158, 1996a.

JACOBS, G.H.; NEITZ, M.; NEITZ, J. Mutations in S-cone pigment genes and the absence of colour vision in two species of nocturnal primate. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 263, p. 705-710, 1996b.

JACOBS, G.H. Photopigments and seeing – lessons from natural experiments. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 39, p. 2205-2216, 1998.

JACOBS, G.H.; WILLIAMS, G.A.; CAHILL, H.; NATHANS, J. Emergence of novel color vision in mice engineered to express a human cone photopigment. **Science**, v. 315, p. 1723-1725, 2007.

JONES, A.E. The retinal structure of (*Aotes trivirgatus*) the owl monkey. **Journal of Comparative Neurology**, v. 125, p. 19-27, 1965.

JUDD, D.B. Report of U.S. Secretariat Committee on Colorimetry and Artificial Daylight. In: **Proceedings of the Twelfth Session of the CIE. Stockholm**, Paris: Bureau Central de la CIE, v. 1, p. 11, 1951.

JUSUF P.R., MARTIN P.R., GRÜNERT U. Synaptic connectivity in the midget-parvocellular pathway of primate central retina. **Journal of Comparative Neurology**, v. 494, p. 260-274, 2006.

KAISER, P.K. Sensation luminance: a new name to distinguish CIE luminance from luminance dependent on an individual's spectral sensitivity. **Vision Research**, v. 28, p. 455-456, 1988.

KAPLAN, E.; SHAPLEY, R.M. The primate retina contains two types of ganglion cells, with high and low contrast sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, p. 2755-2757, 1986.

KAPLAN, E.; MUKHERJEE, P.; SHAPLEY, R.M. Information filtering in the lateral geniculate nucleus. In: SHAPLEY, R.M.; LAM, D.M.K. (eds.). **Contrast Sensitivity**, p. 183-200. Cambridge, Massachusetts: MIT Press, 1993. 362 pp.

KILAVIK, B.E.; KREMERS, J. Interactions between rod and L-cone signals in deuteranopes: gains and phases. **Visual Neuroscience**, v. 23, p. 201-207, 2006.

KOLB, H.; FAMIGLIETTI JR., E.V. Rod and cone pathways in the inner plexiform layer of cat retina. **Science**, v. 186, p. 47-49, 1974.

KOLB, H.; LINBERG, K.; FISHER, S.K. Neurons of the human retina: a Golgi study. **Journal of Comparative Neurology**, v. 318, p. 147-187, 1992.

KREMERS, J.; LEE, B.B.; KAISER, P.K. Sensitivity of macaque retinal ganglion cells and human observers to combined luminance and chromatic temporal modulation. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 9, p. 1477-1485, 1992.

KREMERS, J.; LEE, B.B.; POKORNY, J.; SMITH, V.C. Responses of macaque ganglion cells and human observers to compound periodic waveforms. **Vision Research**, v. 33, p. 1997-2011, 1993.

KÜFFLER, S.W. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. **Journal of Neurophysiology**, v. 16, p. 37-68, 1953.

LAMB, T.D. Photoreceptor spectral sensitivities: common shape in the long-wavelength region. **Vision Research**, v. 35, p. 3083-3091, 1995.

LAMEIRÃO, S.V.O.C. **Caracterização e Distribuição das Células Bipolares de Bastonetes na Retina de *Cebus apella***. Dissertação de Mestre em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 2003. 129 pp.

LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. The physiological basis of heterochromatic flicker photometry demonstrated in the ganglion cells of the macaque retina. **Journal of Physiology (London)**, v. 404, p. 323-347, 1988.

LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Sensitivity of macaque retinal ganglion cells to chromatic and luminance flicker. **Journal of Physiology (London)**, v. 414, p. 223-243, 1989a.

LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Amplitude and phase of responses of macaque retinal ganglion cells to flickering stimuli. **Journal of Physiology (London)**, v. 414, p. 245-263, 1989b.

LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Nonlinear summation of M- and L-cone inputs to phasic retinal ganglion cells of the macaque. **Journal of Neuroscience**, v. 9, p. 1433-1442, 1989c.

LEE, B.B.; POKORNY, J.; SMITH, V.C.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Luminance and chromatic modulation sensitivity of macaque ganglion cells and human observers. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 7, p. 2223-2236, 1990.

LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A.; KREMERS, J. Physiological mechanisms underlying psychophysical sensitivity to combined luminance and chromatic modulation. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 10, p. 1403-1412, 1993.

LEE, B.B.; POKORNY, J.; SMITH, V.C.; KREMERS, J. Responses to pulses and sinusoids in macaque ganglion cells. **Vision Research**, v. 34, p. 3081-3096, 1994.

LEE, B.B.; SILVEIRA, L.C.L.; YAMADA, E.S.; KREMERS, J. Parallel pathways in the retina of Old and New World primates. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 56, sup. 1, p. 323-338, 1996.

LEE, B.B.; SMITH, V.C.; POKORNY, J.; KREMERS, J. Rod inputs to macaque ganglion cells. **Vision Research**, v. 37, p. 2813-2828, 1997.

LEE, B.B.; KREMERS, J.; YEH, T. Receptive fields of primate ganglion cells studied with a novel technique. **Visual Neuroscience**, v. 15, p. 161-175, 1998.

LEE, B.B.; SILVEIRA, L.C.L.; YAMADA, E.S.; HUNT, D.M.; KREMERS, J.; MARTIN, P.R.; TROY, J.B.; da SILVA FILHO, M. Visual responses of ganglion cells of a New World primate, the capuchin monkey, *Cebus apella*. **Journal of Physiology (London)**, v. 528.3, p. 573-590, 2000.

LEE, B.B. Paths to colour in the retina. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 87, p. 239-248, 2004.

LETTVIN, J.Y.; MATURANA, H.R.; McCULLOCH, W.S.; PITTS, W.H. What the frog's eye tells the frog's brain. **Proceedings of The Institute of Radio Engineers**, v. 47, p. 1940-1951, 1959.

LEVENTHAL, A.G.; RODIECK, R.W.; DREHER, B. Retinal ganglion cell classes in the Old World monkey: morphology and central projections. **Science**, v. 213, p. 1139-1142, 1981.

LEVENTHAL, A.G.; AULT, S.J.; VITEK, D.J.; SHOU, T. Extrinsic determinants of retinal ganglion cell development in primates. **Journal of Comparative Neurology**, v. 286, p. 170-189, 1989.

LINDSEY, D.T.; POKORNY, J.; SMITH, V.C. Phase-dependent sensitivity to heterochromatic flicker. **Journal of the Optical Society of America A**, v. 3, p. 921-927, 1986.

MANCUSO, K.; NEITZ, M.; NEITZ, J. An adaptation of the Cambridge Colour Test for use with animals. **Visual Neuroscience**, v. 23, p. 695-701, 2006.

MARR, D. **Vision**. New York, U.S.A.: W. H. Freeman and Company, 1982. 397 pp.

MARTIN, P.R.; LEE, B.B.; WHITE, A.J.R.; SOLOMON, S.G.; RÜTTIGER, L. Chromatic sensitivity of ganglion cells in the peripheral primate retina. **Nature**, v. 410, p. 933-936, 2001.

MARTIN, P.R. Colour through the thalamus. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 87, p. 249-257, 2004.

MARTIN, R.D. **Primate origins and evolution**. Princeton: Princeton University Press, 1990. 804 pp.

MILTON, K. Physiological ecology of howlers (*Alouatta*): energetic and digestive considerations and comparison with the Colobinae. **International Journal of Primatology**, v. 19, p. 513-548, 1998.

MOLLON, J.D.; BOWMAKER, J.K.; JACOBS, G.H. Variations of colour vision in a New World primate can be explained by polymorphism of retinal photopigments. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 222, p. 373-399, 1984.

MOLLON, J.D. Uses and evolutionary origins of primate color vision. In: CRONLY-DILLON, J.R.; GREGORY, R.L. (eds.). **Evolution of the Eye and Visual System (Vol. 2)**, p. 306-319. London: MacMillan, 1991.

NAKA, K.I.; RUSHTON, W.H. S-potentials from colour units in the retina of fish (*Cyprinada*). **Journal of Physiology (London)**, v. 185, p. 536-555, 1966.

NASSAU, K. The causes of color. **Scientific American**, v. 243, p. 124-154, 1980.

NATHANS, J. The evolution and physiology of human color vision: insights from molecular genetic studies of visual pigments. **Neuron**, v. 24, p. 299-312, 1999.

PERRY, V.H.; COWEY, A. The morphological correlates of X- and Y-like retinal ganglion cells in the retina of monkeys. **Experimental Brain Research**, v. 43, p. 226-228, 1981.

PERRY, V.H.; COWEY, A. Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. **Neuroscience**, v. 12, p. 1125-1137, 1984.

PERRY, V.H.; OEHLER, R.; COWEY, A. Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. **Neuroscience**, v. 12, p. 1101-1123, 1984.

PERRY, V.H.; SILVEIRA L.C.L. Functional lamination in the ganglion cell layer of the macaque's retina. **Neuroscience**, v. 25, p. 217-223, 1988.

POLYAK, S.L. **The Retina**. Chicago: University of Chicago Press, 1941. 603 pp.

PROVENCIO, I.; ROLLAG, M.D.; CASTRUCCI, A.M. Photoreceptive net in the mammalian retina. **Nature**, v. 415, 493, 2002.

PURPURA, K.; KAPLAN, E.; SHAPLEY, R.M. Background light and the contrast gain of primate P and M retinal ganglion cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, p. 4534-4537, 1988.

PURPURA, K.; KAPLAN, E.; TRANCHINA, D.; SHAPLEY, R. Light adaptation in the primate retina: analysis of changes in gain and dynamics of monkey retinal ganglion cells. **Visual Neuroscience**, v. 4, p. 75-93, 1990.

RAMÓN Y CAJAL, S. Textura del Sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Traduzido para o inglês (1995): SWANSON, N.; SWANSON, L. (trad.). **Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates**. New York, New York: Oxford University Press, 1904. 1672 pp.

REGAN, B.C.; JULLIOT, C.; SIMMEN, B.; VIÉNOT, F.; CHARLES-DOMINIQUE, P.; MOLLON, J.D. Frugivory and colour vision in *Alouatta seniculus*, a trichromatic platyrrhine monkey. **Vision Research**, v. 38, p. 3321-3327, 1998.

RODIECK, R.W.; BINMOELLER, K.F.; DINEEN, J. Parasol and midget ganglion cells of the human retina. **Journal of Comparative Neurology**, v. 233, p. 115-132, 1985.

RODIECK, R.W.; WATANABE, M. Survey of the morphology of macaque retinal ganglion cells that project to the pretectum, superior colliculus, and parvicellular laminae of the lateral geniculate nucleus. **Journal of Comparative Neurology**, v. 338, p. 289-303, 1993.

RODIECK, R.W. **The First Steps in Seeing**. Sunderland: Sinauer, 1998. 562 pp.

RYLANDS, A. B., SCHNEIDER, H., LANGGUTH, A., MITTERMEIER, R. A., GROVES, C. P., RODRÍGUEZ-LUNA, E. An assessment of the diversity of New World Primates. **Neotropical Primates**, v. 8, p. 61-93, 2000.

SAITO, C.A.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; SILVEIRA, L.C.L.; da SILVA FILHO, M.; KILAVIK, B.E. Rod-cone interactions in the ganglion cell response: studies using the diurnal capuchin-monkey and the nocturnal owl-monkey. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, p. S676, 2001.

SAITO, C.A. **Estudo da Contribuição dos Sinais Provenientes dos Fotorreceptores para as Respostas Eletrofisiológicas das Células Ganglionares Retinianas M e P de *Cebus* e *Aotus***. Dissertação de Mestre em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 2003. 124 pp.

SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; KILAVIK, B.E.; da SILVA FILHO, M. Rod inputs to retinal ganglion cells in two New-World primates, the diurnal *Cebus* and the nocturnal *Aotus*. **Abstracts of Structure, Function and Evolution of the Primate Visual System - PRIMAVISION**, p. 58, 2003.

SAITO, C.A.; da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; BOWMAKER, J.K.; KREMERS, J.; SILVEIRA, L.C.L. Visão de cor tricromática em *Alouatta* – registro unitário de células ganglionares retinianas e espectrofotometria. **Resumos da XIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**. CD-ROM. N° do programa 01.05.130, 2004a.

SAITO, C.A.; da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; BOWMAKER, J.K.; KREMERS, J.; SILVEIRA, L.C.L. *Alouatta* trichromatic color vision - single-unit recording from retinal ganglion cells and microspectrophotometry. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, p. 4276, 2004b.

SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L.; da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; KREMERS, J. Ganho de contraste nas células ganglionares do macaco guariba. **Resumos da I Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**. CD-ROM. N° do programa 16.026, 2005a.

SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L.; da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; KREMERS, J. Sensibilidade ao contraste temporal acromático de células ganglionares retinianas do *Alouatta*. **Resumos da XX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**. CD-ROM. N° do programa 05.129, 2005b.

SAITO, C.A.; SILVEIRA, L.C.L.; da SILVA FILHO, M.; LEE, B.B.; KREMERS, J. Physiology of howler monkey retinal ganglion cells: temporal achromatic contrast sensitivity. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 46, p. 2240, 2005c.

SCHNEEWEIS, D.M.; SCHNAPF, J.L. Photovoltage of rods and cones in the macaque retina. **Science**, v. 268, p. 1053-1056, 1995.

SHAPLEY, R.M.; PERRY, V.H. Cat and monkey ganglion cells and their visual functions roles. **Trends in Neuroscience**, v. 9, p. 229-235, 1986.

SILVEIRA, L.C.L.; PICANÇO-DINIZ, C.W.; SAMPAIO, L.F.S.; OSWALDO-CRUZ, E. Retinal ganglion cell distribution in the *Cebus* monkey: a comparison with the cortical magnification factors. **Vision Research**, v. 29, p. 1471-1483, 1989.

SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. A neurofibrillar staining method for retina and skin: a simple modification for improved staining and reliability. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 33, p. 11-21, 1990.

SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. The topography of magnocellular projecting ganglion cells (M-ganglion cells) in the primate retina. **Neuroscience**, v. 40, p. 217-37, 1991.

SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H.; YAMADA, E.S. The retinal ganglion cell distribution and the representation of the visual field in area 17 of the owl-monkey *Aotus trivirgatus*. **Visual Neuroscience**, v. 10, p. 887-897, 1993.

SILVEIRA, L.C.L.; YAMADA, E.S.; PERRY, V.H.; PICANÇO-DINIZ, C.W. M and P retinal ganglion cells of diurnal and nocturnal New World monkeys. **NeuroReport**, v. 5, p. 2077-2081, 1994.

SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; YAMADA, E.S.; KREMERS, J.; HUNT, D.M. Retinal ganglion cell responses in a dichromatic primate, *Cebus apella*. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 37, p. S1056, 1996.

SILVEIRA, L.C.L. Joint entropy loci of M and P cells: a hypothesis for parallel processing in the primate visual system. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 56, sup. 1, p. 345-367, 1996.

SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; YAMADA, E.S.; KREMERS, J. Morphology and physiology of S-cone pathways in New World primates. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 38, p. S708, 1997.

SILVEIRA, L.C.L.; de MELLO Jr., H.D. Parallel pathways of the primate vision: sampling of the information in the Fourier space by M and P cells. In: CHALUPA, L.M., FINLAY, B.L. (eds). **Development and Organization of the Retina: From Molecules to Function**. p 173-199. New York, New York: Plenum Press, 1998. 345 pp.

SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; MARTIN, P.R.; YAMADA, E.S.; HUNT, D.M. Ganglion cell responses in the retinae of trichromatic female capuchin monkeys. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 39, p. S564, 1998.

SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; YAMADA, E.S.; KREMERS, J.; HUNT, D.M.; MARTIN, P.R.; GOMES, F.L. Ganglion cells of a short-wavelength-sensitive cone pathway in New World monkeys: morphology and physiology. **Visual Neuroscience**, v. 16, p. 333-43, 1999.

SILVEIRA, L.C.L.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; da SILVA FILHO, M.; SAITO, C.A.; KILAVIK, B.E. Receptor inputs and temporal dynamics of owl monkey ganglion cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, p. S937, 2000.

SILVEIRA, L.C.L.; SAITO, C.A.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; da SILVA FILHO, M.; KILAVIK, B.E. Convergência de cones e bastonetes em células ganglionares de primatas diurnos e noturnos. **Resumos da XVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**, p. 359, 2001a.

SILVEIRA, L.C.L.; YAMADA, E.S.; FRANCO, E.C.S.; FINLAY, B.L. The specialisation of the owl monkey retina for night vision. **Color Research & Application**, v. 26, p. S118-S122, 2001b.

SILVEIRA, L.C.L.; SAITO, C.A.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; da SILVA FILHO, M.; KILAVIK, B.E.; YAMADA, E.S.; PERRY, V.H. Morphology and physiology of primate M- and P-cells. **Progress in Brain Research**, v. 144, p. 21-46, 2004a.

SILVEIRA, L.C.L.; SAITO C.A.; de MELLO Jr., H.D.; RODRIGUES, A.R.; da SILVA FILHO M. Information transfer by parallel visual pathways: do different visual pathways minimize joint entropy differently? In: MONDAINI, R. (ed.). **Proceedings of the Third Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology**. p 178-207. Rio de Janeiro, Brazil: E-papers Serviços Editoriais, 2004b. 438 pp.

SILVEIRA, L.C.L.; ZURAWSKI, J.D.; PARSONS, M.P.; FINLAY, B.L. Unusual retinal organization in the howler monkey, *Alouatta caraya*. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, p. 44, 2004c.

SZMAJDA B.A.; GRÜNERT U.; MARTIN P.R. Mosaic properties of midget and parasol ganglion cells in the marmoset retina. **Visual Neuroscience**, v. 22, p. 395-404, 2005.

SZMAJDA, B.A.; BUZÁS, P.; FITZGIBBON, T.; MARTIN, P.R. Geniculocortical relay of blue-off signals in the primate visual system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 103, p. 19512-19517, 2006.

SMITH, V.C.; LEE, B.B.; POKORNY, J.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Responses of macaque ganglion cells to the relative phase of heterochromatically modulated lights. **Journal of Physiology (London)**, v. 458, p. 191-221, 1992.

STONE, J.; JOHNSTON, E. The topography of primate retina: a study of the human, bushbaby, and New- and Old-World monkeys. **Journal of Comparative Neurology**, v. 196, p. 205-23, 1981.

SUN, H.; POKORNY, J.; SMITH, V.C. Rod-cone interactions assessed in inferred magnocellular and parvocellular postreceptoral pathways. **Journal of Vision**, v. 1, p. 42-54, 2001.

SUN, H.; SMITHSON, H.E.; ZAIDI, Q.; LEE, B.B. Specificity of cone inputs to macaque retinal ganglion cells. **Journal of Neurophysiology**, v. 95, p. 837-849, 2006.

TAN, Y., LI, W.H. Trichromatic vision in prosimians. **Nature**, v. 402, p. 36, 1999.

TROILO, D.; HOWLAND, H.C.; JUDGE, S.J. Visual optics and retinal cone topography in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Vision Research**, v. 33, p. 1301-1310, 1993.

VALBERG, A.; LEE, B.B.; TIGWELL, D.A. Neurones with strong inhibitory S-cone inputs in the macaque lateral geniculate nucleus. **Vision Research**, v. 26, p. 1061-1064, 1986.

VERWEIJ, J.; DACEY, D.M.; PETERSON, B.B.; BUCK, S.L. Sensitivity and dynamics of rod signals in H1 horizontal cells of the macaque monkey retina. **Vision Research**, v. 39, p. 3662-3672, 1999.

VOROBYEV, M. Ecology and evolution of primate colour vision. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 87, p. 230-238, 2004.

WÄSSLE, H., BOYCOTT, B.B. Functional architecture of the mammalian retina. **Physiological Reviews**, v. 71, p. 447-480, 1991.

WÄSSLE, H.; YAMASHITA, M.; GREFERATH, U.; GRÜNERT, U.; MULLER, F. The rod bipolar cell of the mammalian retina. **Visual Neuroscience**, v. 7, p. 99-112, 1991.

WÄSSLE, H.; GRÜNERT, U.; CHUN, M.H.; BOYCOTT, B.B. The rod pathway of the macaque monkey retina: identification of AII-amacrine cells with antibodies against calretinin. **Journal of Comparative Neurology**, v. 361, p. 537-551, 1995.

WATANABE, M.; RODIECK, R.W. Parasol and midget ganglion cells. **Journal of Comparative Neurology**, v. 289, p. 434-454, 1989.

WEBB, S.V.; KAAS, J.H. The sizes and distribution of ganglion cells in the retina of the owl monkey, *Aotus trivirgatus*. **Vision Research**, v. 16, p. 1247-1254, 1976.

WEISS, S.; KREMERS, J.; MAURER, J. Interaction between rod and cone signals in responses of lateral geniculate neurons in dichromatic marmosets (*Callithrix jacchus*). **Visual Neuroscience**, v. 15, p. 931-943, 1998.

WESTHEIMER, G. The Maxwellian view. **Vision Research**, v. 6, p. 669-682, 1966.

WIKLER, K.C.; RAKIC, P. Distribution of photoreceptor subtypes in the retina of diurnal and nocturnal primates. **Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 3390-3401, 1990.

WILDER H.D.; GRÜNERT U.; LEE B.B.; MARTIN P.R. Topography of ganglion cells and photoreceptors in the retina of a New World monkey: the marmoset *Callithrix jacchus*. **Visual Neuroscience**, v. 13, p. 335-352, 1996.

YAMADA, E.S. **Organização Morfofuncional do Sistema Visual de Primatas Platiirinos: Análise Quantitativa da Morfologia, Densidade e Cobertura Dendrítica das Células Ganglionares Retinianas M e P de *Cebus* e *Aotus***. Tese de Doutor em Ciências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Neurociências). Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, 1995. 203 pp.

YAMADA, E.S.; SILVEIRA, L.C.L.; GOMES, F.L.; LEE, B.B. The retinal ganglion cell classes of New World primates. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 56, sup. 1, p. 381-396, 1996a.

YAMADA, E.S.; SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. Morphology, dendritic field size, somal size, density and coverage of M and P retinal ganglion cells of dichromatic *Cebus* monkeys. **Visual Neuroscience**, v. 13, p. 1011-1029, 1996b.

YAMADA, E.S.; MARSHAK, D.W.; SILVEIRA, L.C.L.; CASAGRANDE, V.A. Morphology of P and M retinal ganglion cells of the bush baby. **Vision Research**, v. 38, p. 3345-3352, 1998.

YAMADA, E.S.; SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H.; FRANCO, E.C.S. Morphology and dendritic field size of M and P retinal ganglion cells of the owl monkey. **Vision Research**, v. 41, p. 119-131, 2001.

YAMADA, E.S.; BORDT, A.S.; MARSHAK, D.W. Wide-field ganglion cells in macaque retinas. **Visual Neuroscience**, v. 22, p. 383-393, 2005.

YEH, T.; LEE, B.B.; KREMERS, J.; COWING, J.A.; HUNT, D.M.; MARTIN, P.R.; TROY, J.B. Visual responses in the lateral geniculate nucleus of dichromatic and trichromatic marmosets (*Callithrix jacchus*). **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 7892-7904, 1995.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)