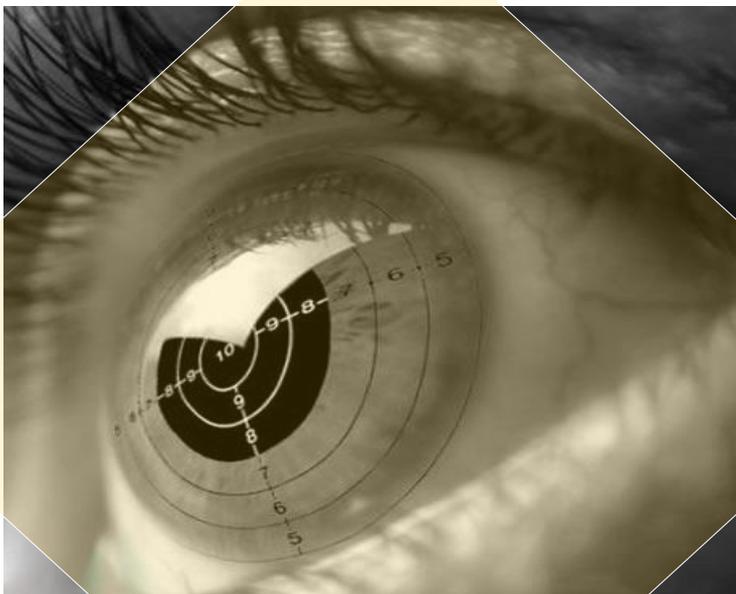


**Grupo de Neurociencia
Y Control Motor**

**PAPEL DE LAS RÁFAGAS DE POTENCIALES DE ACCIÓN EN
LA DETECCIÓN DE ESTÍMULOS VISUALES EN PRIMATES:
REGULACIÓN POR LA VÍA CÓRTICO-TALÁMICA**



TANIA ORTUÑO SILVA

TESIS DOCTORAL

A Coruña, 2013



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR

**PAPEL DE LAS RÁFAGAS DE POTENCIALES DE ACCIÓN EN
LA DETECCIÓN DE ESTÍMULOS VISUALES EN PRIMATES:
REGULACIÓN POR LA VÍA CÓRTICO-TALÁMICA**

AUTORA:

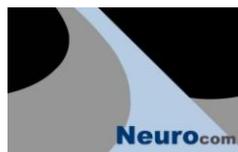
TANIA ORTUÑO SILVA

DIRECTORES:

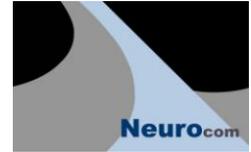
J. CASTO RIVADULLA FERNÁNDEZ

F. JAVIER CUDEIRO MAZAIRA

A CORUÑA, 2013



NEUROcom. GRUPO DE NEUROCIENCIA Y CONTROL MOTOR



Grupo de Neurociencia

Y Control Motor

Los abajo firmantes, profesores de la Universidad de A Coruña, y pertenecientes al Laboratorio de Neurociencia y Control Motor (NEUROcom), CERTIFICAN que el trabajo titulado “Papel de las ráfagas de potenciales de acción en la detección de estímulos visuales en primate: Regulación por la vía córtico-talámica”, ha sido realizado por la Licenciada en Biología Doña Tania Ortuño Silva bajo nuestra dirección.

Dicho trabajo reúne las condiciones necesarias de originalidad y rigor científico para ser defendido públicamente y optar al grado de Doctora en Neurociencias.

F. Javier Cudeiro Mazaira
Catedrático de Fisiología
Departamento de Medicina

J. Casto Rivadulla Fernández
Profesor Titular
Departamento de Medicina

Este trabajo ha sido realizado bajo la financiación del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) mediante la concesión de una ayuda predoctoral de formación del personal investigador (F.P.I), con referencia a la ayuda (BES-2006-13458) y referencia de proyecto MEC BFU-2005-00502, y por la Xunta de Galicia (Consellería de Educación-2007/000140-0).

La doctoranda ha participado en trabajos que han dado lugar publicaciones y comunicaciones en congresos:

Publicaciones

Ortuno, T., Grieve, K., Cao, R., Cudeiro, J. & Rivadulla, C. A cortically driven attentional spotlight enhances burst firing in the visual responses of thalamic cells in the awake primate and contributes to novelty detection (2013) (pendiente de publicación)

Comunicaciones a Congresos

Internacionales

Rivadulla, C., Ortuño, T., Grieve, K., Aguilar, J., Cudeiro, J. Burst firing contributes to stimulus detection in the visual thalamus of the awake monkey. 8th FENS Forum, Barcelona (2012)

Nacionales

Ortuño, T., Rivadulla, C., Grieve, K., Escalada, A., y Cudeiro, J. Ráfagas de potenciales de acción y detección de estímulos visuales en el NGL de primate despierto (*Macaca mulatta*). XIV Congreso de la SENC, Salamanca (2011)

Rivadulla, C., Ortuño, T., Grieve, K., Aguilar, J., Cudeiro, J. Efecto de la estimulación magnética transcraneal (EMT) en la corteza visual sobre la actividad talámica en primate despierto (*Macaca mulatta*), XIV Congreso de la SENC, Salamanca (2011)

Ortuño, T., Escalada, A., Grieve, K., Rivadulla, C., y Cudeiro, J. Detección de estímulos en el inicio del sistema visual. Jornadas Internacionales sobre sistemas Micro-Nano-Bio y Sistemas Neurogliales, A Coruña (2010)

Ortuño, T., Escalada, A., Grieve, K., Rivadulla, C., y Cudeiro, J. Papel de las ráfagas de potenciales de acción en tálamo visual de primate despierto (*Macaca mulatta*) durante el aprendizaje. XIII Congreso de la SENC, Tarragona (2009)

Ortuño, T., Escalada, A., Grieve, K., Rivadulla, C., y Cudeiro, J. Papel de las ráfagas de potenciales de acción en tálamo visual de primate despierto (*Macaca mulatta*) durante una tarea de discriminación visual. VI Encuentros Atlánticos de Neurociencia, A Coruña (2009)

AGRADECIMIENTOS

Y cuando por fin se ha terminado la fase de escribir la tesis, aún falta un último capítulo que también va a resultar complicado, porque hay tanta gente que ha sido imprescindible para conseguir terminar este trabajo que la verdad no sé ni por dónde empezar. De hecho, todas las personas que han compartido conmigo estos años, son partícipes de una forma u otra del presente trabajo, porque estoy segura de que en algún momento han tenido que aguantar agobios y problemas o explicaciones “frikis” sobre primates y neuronas.

En primer lugar, agradecer a Javier Cudeiro el abrimme las puertas de su laboratorio y darme la oportunidad de realizar este proyecto, así como su confianza incondicional en el mismo, y su optimismo con cada pequeño logro obtenido.

A Casto Rivadulla, por su orientación y ayuda en esta tesis, y porque, a pesar de las discrepancias de opinión en diversos momentos, he aprendido mucho trabajando a su lado a lo largo de estos años, y estoy convencida de que me será de gran utilidad en el futuro, tanto a nivel personal como profesional.

A Kenneth Grieve, por sus valiosas aportaciones al proyecto y consejos, así como su colaboración durante sus estancias en Coruña, y desde la distancia.

A Ricardo Cao, por su colaboración y consejo en la parte estadística del proyecto, y su ayuda en el desarrollo del mismo.

A María Jesús Manso, por su inestimable ayuda con todos los temas administrativos y burocráticos, y por su apoyo constante a lo largo de estos años de tesis.

A mis compañeros de laboratorio, empezando por Miguel, con el que comencé este proyecto ya hace años, y que fue un apoyo imprescindible en muchos momentos, así como un amigo con el que compartir lo bueno y lo malo que conlleva realizar una tesis doctoral. A Jordi, que aunque llegó casi cuando yo ya me iba, fue un compañero y amigo desde el primer momento, y con el que compartí muy buenos momentos en el tiempo que trabajamos juntos. A Vero, por su amistad y ayuda en todo, y también, por nuestras charlas, especialmente en los últimos meses que pasé en Coruña. A Nelson, Yoanna, Pablo, Xurxo, por vuestros buenos consejos, apoyo y ayuda siempre que os he necesitado.

A Alberto y Edu, por ayudarnos a arrancar este proyecto y ofrecernos su experiencia y colaboración en todo momento, y por supuesto, a nuestros técnicos, por cuidar tan bien de nuestros monos y de nosotros, y en general, a todo el personal de la Unidad de Cirugía Experimental, que siempre nos ha ayudado.

Por supuesto, este proyecto no hubiese sido posible sin el apoyo incondicional y el cariño de mi familia, y en especial de mis padres, que en todo momento han respaldado mis decisiones,

independientemente de estar o no de acuerdo con ellas. Gracias por creer en mí y enseñarme que todo es posible con valentía y esfuerzo.

A Miguel, que ha tenido que aguantar las largas horas de trabajo, y los nervios y el estrés del tirón final que han supuesto estos últimos meses de tesis. Sin ti, sin tu ánimo y tu confianza en mí, no estaría hoy aquí presentando este trabajo.

A mis amigos, empezando por Pablo (a ver si es verdad que te lees la tesis...), muchas gracias por todo tu apoyo, en todo y desde siempre; a Inés, por preguntarme mil veces porqué me había metido en este jardín pero animarme incondicionalmente a salir de él; a Marta, Patri y Bego, por aguantar mis explicaciones, las crisis de “lo dejo, no puedo más” y ser mis mejores amigas en todo momento; A mis niñas, que son un pilar incondicional en mi vida y que, aunque no tengan ni idea de qué va esto de la tesis, y sólo les suene que trabajaba con un mono, están siempre a mi lado; a Anita y Rous, por tantas charlas y cervezas arreglando el mundo; A mis compañeros de la cerve, por tantos buenos momentos dentro y fuera del trabajo, ayudándome a olvidarme de todo el estrés de una semana de trabajo de laboratorio, y a muchos más, que, aunque no mencione con nombre y apellido, me han animado siempre a continuar y finalizar este proyecto, y a los que les debo una gran fiesta de celebración por ello.

A todos, gracias.

A mi familia

Actualmente, el Núcleo Geniculado Lateral (NGL) es considerado un elemento clave en el procesamiento de la visión. Dada la inmensa cantidad de información que fluye a través de la vía, es preciso seleccionar aquella más relevante previamente a su llegada a la corteza, donde será procesada en detalle. Mediante la respuesta en ráfagas de bajo umbral, el NGL es capaz de detectar estímulos novedosos en el campo visual y enviar información sobre ellos a la corteza, la cual modula la actividad talámica a través de las aferencias córtico-talámicas (bucle tálamo-córtico-talámico).

Mediante la resolución de dos tareas visuales, se demostró que las ráfagas se generan inmediatamente después de la aparición del estímulo visual, y que su respuesta varía en función del mismo: ante estímulos novedosos, el número de ráfagas es superior, y sus características intrínsecas diferentes (mayor duración y número de espigas). La aplicación de Estimulación magnética transcraneal (EMT) sobre la corteza visual primaria, mostró una modulación de las aferencias córticofugales sobre el NGL, disminuyendo la actividad talámica.

Por tanto, el tálamo participa activamente en la transmisión y análisis inicial de la información visual, aunque existe un control cortical sobre la actividad del NGL a través de la vía córtico-talámica.

Actualmente, o Núcleo Geniculado Lateral (NGL) é considerado un elemento clave no procesamento da visión. Dada a inmensa cantidade de información que flúe a través desta vía, é preciso seleccionar aquela máis relevante previamente á súa chegada á codia, onde será procesada en detalle. Mediante a resposta en trens de potenciais de baixo limiar, o NGL é capaz de detectar estímulos novidosos no campo visual e enviar información sobre eles á corteza, a cal modula a actividade talámica a través das aferencias córtico-talámicas (bucle tálamo-córtico-talámico).

Mediante a resolución de dúas tarefas visuais, demostrouse que os trens de potenciais de baixo limiar se xeran inmediatamente despois da aparición do estímulo visual, e que a súa resposta varía en función deste: ante estímulos novidosos, o número de potenciais é superior, e as súas características intrínsecas diferentes (maior duración e número de espigas). A aplicación de Estimulación magnética transcraneal (EMT) sobre a corteza visual primaria, mostrou unha modulación das aferencias córticofugais sobre o NGL, disminuindo a actividade talámica.

Polo tanto, o tálamo participa activamente na transmisión e análise inicial da información visual, aínda que existe un control da codia sobre a actividade do NGL a través da vía córtico-talámica.

Currently, the lateral geniculate nucleus (LGN) is considered a key element in the vision processing. Given the vast amount of information that flows through this path, it is necessary to select the most relevant one prior to their arrival to the cortex, where they will be processed in detail. By replying in bursts of low threshold, the NGL is able to detect novel stimuli in the visual field and send information about them to the cortex, which modulates thalamic activity via corticothalamic feedback (thalamo-cortical-thalamic circuit).

The resolution of two visual tasks, showed that the bursts are generated immediately after the onset of the visual stimulus, and that their response varies with the same: to novel stimuli, the number of bursts is higher, and their intrinsic characteristics are different (longer duration and number of spikes). The application of transcranial magnetic stimulation (TMS) over the primary visual cortex, showed a modulation of cortical afferents on NGL, decreasing thalamic activity.

Therefore, the thalamus is actively involved in the transmission and initial analysis of visual information, although a cortical control of the activity of NGL by corticothalamic feedback exists.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Cpg	Ciclos por grado
CR	Campo receptor
EET	Estimulación eléctrica transcraneal
EMT	Estimulación magnética transcraneal
EMTpp	Estimulación magnética transcraneal por pulsos pareados
EMTr	Estimulación magnética transcraneal repetitiva
GABA	Ácido- γ -amino butírico
HT	Alto umbral (del inglés, High threshold)
Hz	Hercio
ISI	Intervalo entre espigas (del inglés, Inter spike interval)
K	Koniocelular
M	Magnocelular
ms	Milisegundo
MT/V5	Área medial-temporal (del inglés, medial temporal area)
mV	Milivoltio
MΩ	Microhmios
NGL	Núcleo geniculado lateral
NO	Óxido nítrico
NPG	Núcleo perigeniculado
NRT	Núcleo reticular talámico
P	Parvocelular
PBR	Región peribranquial
PPSE	Potencial excitador postsináptico
Rpm	Revoluciones por minuto
S	Segundo
T	Tesla
V1	Corteza visual primaria
V2/V4	Áreas visuales extraestriadas
Volt	Voltios
VT	Volumen corriente

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1 EL TÁLAMO.....	3
2.1.1 INTRODUCCIÓN: EL NÚCLEO GENICULADO LATERAL (NGL).....	3
2.2 TIPOS CELULARES EN EL NGL EN PRIMATES.....	5
2.2.1 NEURONAS DE PROYECCIÓN DEL NGL	5
2.2.1.1 CAMPOS RECEPTORES DE LAS NEURONAS DE PROYECCIÓN	7
2.2.2 INTERNEURONAS.....	8
2.3 AFERENCIAS TALÁMICAS	9
2.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS AFERENCIAS PRINCIPALES Y MODULADORAS.....	10
2.3.2 AFERENCIAS PRINCIPALES Y MODULADORAS DEL NGL.....	10
2.3.2.1 AFERENCIAS PRINCIPALES.....	10
2.3.2.2 AFERENCIAS DESDE LA RETINA.....	11
2.3.2.3 AFERENCIAS MODULADORAS.....	13
2.4 LA CORTEZA VISUAL	15
2.4.1 ESTRUCTURA DE LA CORTEZA VISUAL PRIMARIA	15
2.4.2 TIPOS CELULARES EN LA CORTEZA VISUAL	16
2.4.2.1 TIPOS DE NEURONAS CÓRTICO-TALÁMICAS.....	18
2.5 BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO.....	20
2.5.1 ESTRUCTURA DEL BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO.....	20
2.6 PATRONES DE DISPARO NEURONAL EN EL NGL	22
2.6.1 INTRODUCCIÓN	22
2.6.2 TIPOS DE DISPARO NEURONAL EN EL NGL.....	23
2.6.3 PROPIEDADES Y FUNCIONES DE LA RESPUESTA CELULAR TALÁMICA.....	26
2.6.4 FUNCIÓN DEL CIRCUÍTO TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO EN EL PROCESAMIENTO VISUAL.....	29
2.7 ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL (EMT).....	31
2.7.1 INTRODUCCIÓN	31
2.7.2 APLICACIONES DE LA EMT EN EL ESTUDIO DEL SISTEMA VISUAL	32
2.7.3 FACTORES DETERMINANTES EN LA APLICACIÓN DE EMT.....	33
A. FRECUENCIA.....	33
B. INTENSIDAD DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA.....	33
C. LUGAR DE ESTIMULACIÓN	34
D. TIPO DE BOBINA ELECTROMAGNÉTICA	34

3. OBJETIVOS	37
4. MATERIAL Y MÉTODOS	39
4.1 ASPECTOS GENERALES	39
4.2 ADAPTACIÓN	39
4.3 ENTRENAMIENTO	40
4.4 CIRUGÍAS	40
4.4.1 ASPECTOS GENERALES	40
4.4.2 LOCALIZACIÓN DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL	41
4.4.3 PREOPERATORIO INMEDIATO: ASPECTOS GENERALES	42
4.4.4 CIRUGÍA DE IMPLANTE DEL POSTE DE FIJACIÓN	42
4.4.5 CIRUGÍA DE IMPLANTE DE LA CÁMARA DE REGISTRO	44
4.5 MONTAJE DEL LABORATORIO Y EQUIPO DE EXPERIMENTACIÓN	46
4.5.1 ASPECTOS GENERALES	46
4.5.2 SISTEMA DE GENERACIÓN DE ESTÍMULOS VISUALES Y DE REGISTRO: MONTAJE GENERAL	47
4.5.3 TAREAS VISUALES	49
4.5.4 PROTOCOLO 0: LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL CAMPO RECEPTOR CELULAR	49
4.5.5 PROTOCOLO 1: TAREA VISUAL 1	50
4.5.6 PROTOCOLO 2: TAREA VISUAL 2	51
4.5.7 PROTOCOLO 3: TAREA VISUAL 1 y EMT	52
4.6 ANÁLISIS DE DATOS Y ESTADÍSTICA	54
5. RESULTADOS	57
5.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS PATRONES DE DISPARO NEURONAL EN EL TÁLAMO (NGL)	57
5.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE DISPARO EN LA RESPUESTA VISUAL	61
5.3 PAPEL DE LAS RÁFAGAS DE POTENCIALES DE ACCIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN VISUAL	64
5.3.1 TAREA VISUAL 1	64
A. ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS EN RÁFAGA Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD	65
B. ANÁLISIS CLUSTER	67
Figura igual (distractores)	68
Figura diferente	68
C. INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE LA RESPUESTA EN RÁFAGA DE BAJO UMBRAL	70
5.3.2 TAREA VISUAL 2	72

A.	ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS EN RÁFAGA Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD.....	73
B.	ANÁLISIS CLUSTER	75
	Figura igual (distractores)	76
	Figura diferente.....	89
C.	INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE LA RESPUESTA EN RÁFAGA DE BAJO UMBRAL.....	78
5.4	RESPUESTA TÓNICA: FUNCIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN VISUAL	83
A.	ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS TÓNICAS Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD	84
	Tarea visual 1	85
	Tarea visual 2	87
B.	INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE EL DISPARO TÓNICO.....	88
5.5	ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL (EMT).....	90
5.5.1	EFFECTO DE LA EMT SOBRE LA ACTIVIDAD NEURONAL.....	90
5.5.2	EFFECTO DE LA EMT SOBRE LAS ESPIGAS TÓNICAS Y LAS RÁFAGAS DE BAJO UMBRAL.....	94
5.5.3	INFLUENCIA DE LA EMT SOBRE LA CONDUCTA OBSERVADA DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TAREA VISUAL	97
6.	DISCUSIÓN.....	99
6.1	CARACTERIZACIÓN DE LOS DISTINTAS RESPUESTAS NEURONALES EN EL NGL	99
6.2	PAPEL DE LOS TIPOS DE RESPUESTA NEURONAL EN EL NGL DURANTE LA TRANSMISIÓN DE INFORMACIÓN SENSORIAL A LA CORTEZA VISUAL	103
6.2.1	CARACTERÍSTICAS DE LAS RÁFAGAS: NÚMERO DE ESPIGAS, FRECUENCIA Y DURACIÓN EN FUNCIÓN DEL ESTÍMULO VISUAL	105
6.3.	EFFECTOS ATENCIONALES SOBRE LA CARACTERIZACIÓN DE LOS DIFERENTES ESTÍMULOS VISUALES	107
6.4.	PAPEL DEL BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO EN EL PROCESAMIENTO VISUAL: EMT.....	110
7.	CONCLUSIONES.....	117
8.	BIBLIOGRAFÍA	119

1. RESUMEN

Actualmente, el Núcleo Geniculado Lateral (NGL) es considerado un elemento clave en el procesamiento de la visión. Dada la inmensa cantidad de información que fluye a través de la vía visual, es preciso seleccionar aquella más relevante previamente a su llegada a la corteza, dónde será procesada en detalle. Mediante dos tipos de respuesta celular (ráfagas de bajo umbral y respuesta tónica), el NGL transmite diferentes rasgos o características de los estímulos a la corteza, la cual a su vez, modula la actividad talámica a través de las aferencias córtico-talámicas (bucle tálamo-córtico-talámico).

El objetivo del presente trabajo es determinar si las ráfagas de bajo umbral generadas en el tálamo, consideradas durante un largo período de tiempo como una desconexión tálamo-cortical propia del sueño, existen en estados de alerta o vigilia, y participan de forma activa en la detección de estímulos visuales.

Para ello, se realizaron registros electrofisiológicos unitarios y extracelulares en dos monos despiertos (*Macaca mulatta*) mientras éstos resolvían dos tareas visuales diferentes, teniendo que identificar en la primera de ellas, la única diferente de entre cuatro figuras geométricas (tarea visual 1), y en la segunda, señalar la posición de una figura que aparece en diferentes localizaciones en el campo visual del animal, intercalando la aparición de series de figura repetitivas (distractores) con una figura novedosa (tarea visual 2).

Los resultados obtenidos muestran que, en ambas tareas, las ráfagas aparecen concentradas en los 100 ms posteriores a la aparición del estímulo, desapareciendo trascurrido este intervalo de tiempo. Ante la presencia del estímulo diferente, el número de ráfagas es significativamente mayor que ante los distractores, (tarea 1, p valor: 0,0034; tarea 2, p valor: 0,0161). El análisis de las características intrínsecas de las ráfagas (duración, número de espigas y frecuencia) muestra que éstas varían en función del tipo de estímulo, aumentando su duración y el número de espigas por ráfaga en el caso del estímulo novedoso. Asimismo, los análisis de densidad de probabilidad para el mismo intervalo de 100 ms tras la aparición del estímulo, muestran diferencias significativas en la distribución de las ráfagas (estímulo novedoso versus distractor; tarea 1, p valor: 0,0491; tarea 2, p valor: 0,0214)

Por otro lado, se determinó un componente atencional en la aparición de las ráfagas, al disminuir éstas de forma significativa (tarea 1, p valor: 0,02; tarea 2, p valor: 0,0000232861) durante el trascurso de la tarea, siempre y cuando la duración de la misma fuese adecuada en función de su complejidad (mínimo de 60 ensayos en la tarea 1 y 150 ensayos para la tarea 2).

La aplicación de técnicas de EMT (Estimulación magnética transcraneal) sobre la corteza visual primaria con la finalidad de inhibir la vía córtico-talámica que comunica V1 con el NGL regulando su actividad, mostró una disminución significativa de la actividad talámica, tanto del disparo en ráfaga como del disparo tónico, en los 4 minutos posteriores a su aplicación, recuperándose tras una pausa de 10-15 minutos los valores normales de actividad en el caso del disparo tónico, siendo necesario un intervalo de tiempo mayor para las ráfagas de bajo umbral.

Es importante señalar que el efecto de la EMT fue cuantitativamente mayor sobre la respuesta en ráfagas que sobre el disparo tónico, produciendo la práctica desaparición de la primera.

Además, el porcentaje de aciertos realizados por los animales, disminuye de manera significativa tras la aplicación de la EMT con respecto a los resultados obtenidos en los registros control, indicando una influencia en el comportamiento relevante.

En conclusión, en el tálamo, las ráfagas de potenciales de acción aparecen inmediatamente después de la aparición del estímulo visual (en un intervalo de 100 ms), participando de forma activa en el procesamiento o filtrado inicial de la información, al detectar estímulos novedosos y caracterizarlos mediante variaciones en sus propiedades intrínsecas. El tálamo, por tanto, participa activamente en la transmisión y análisis inicial de la información visual, si bien los resultados mostrados tras la aplicación de la técnica de EMT indican un control de la corteza sobre este núcleo a través de la vía córtico-talámica.

2. INTRODUCCIÓN

El procesamiento de la visión se inicia en la retina en donde los rayos de luz reflejados por los objetos son captados por los fotorreceptores y transformados en energía electroquímica. Desde aquí, la información progresa por distintas partes del sistema visual, alcanzando primeramente el diencefalo y posteriormente las distintas áreas de la corteza visual. En este trabajo nos hemos centrado en el papel que el núcleo geniculado lateral (NGL) del tálamo desempeña en la visión, específicamente en la detección de estímulos novedosos, y su regulación por la corteza visual primaria (V1).

2.1 EL TÁLAMO

Dentro del sistema nervioso central, el diencefalo se divide en dos estructuras principales: el tálamo y el hipotálamo. El tálamo se encuentra a su vez subdividido en tálamo ventral y tálamo dorsal, siendo éste último el que representa la mayor parte de esta estructura en mamíferos, extendiéndose entre el epitálamo y el tálamo ventral. Por este motivo, cuando se hable de tálamo en este trabajo, se estará haciendo referencia al tálamo dorsal.

Dentro de los distintos núcleos que constituyen la estructura talámica, nos centraremos en aquel en el que se basa nuestra investigación, el núcleo geniculado lateral (NGL).

2.1.1 INTRODUCCIÓN: EL NÚCLEO GENICULADO LATERAL (NGL)

Las células ganglionares de la retina proyectan sus axones a tres estructuras principales: pretectum, colículo superior y tálamo (Chalupa & Thompson, 1980; Vaney et al., 1981; Linden & Perry, 1983; Jhaveri et al., 1991). Las dos primeras estructuras pertenecen al mesencéfalo y están relacionadas con el control de la contracción de la pupila y los movimientos oculares, respectivamente. En el tálamo, la estructura principal relacionada con la visión es el NGL. Este núcleo recibe el 90% de las aferencias retinianas destinadas al tálamo, las cuales mantienen una meticulosa organización retinotópica en ambos NGLs.

A pesar de recibir esta importante aferencia desde la retina, denominada aferencia principal (del inglés, "driver"; Sherman & Guillery, 2006) por ciertas características fisiológicas y estructurales que veremos más adelante (ver apartado 2.3 y siguientes), ésta constituye tan sólo el 10% de las aferencias totales que recibe este núcleo (Van Horn et al., 2000), estando constituido el 90% restante por aferencias moduladoras que le llegan desde el núcleo reticular talámico (NRT) o provenientes de otros núcleos (del propio tálamo, como el pulvinar, o del tronco encefálico), así como de la corteza visual primaria (Sherman & Guillery, 2002).

En todos los mamíferos, el NGL está organizado en capas, presentando un mínimo de dos, y aumentando este número a medida que avanzamos en la escala filogenética, y consecuentemente, en complejidad (Kremers et al., 2005). Así, en los primates no humanos objeto de nuestro estudio (*Macaca mulatta*), y también en el hombre, esta estructura consta de seis capas diferenciadas que contienen distintos tipos celulares y reciben información de una u otra retina de forma independiente.

En el NGL, existen dos tipos celulares principales: Por un lado, tenemos las *células de proyección o de relevo*, que envían sus axones a la corteza visual, siendo excitadoras (glutamatérgicas) y constituyendo la aferencia principal desde el NGL hasta la corteza visual primaria (V1), y por otro, *interneuronas GABAérgicas*, y por lo tanto inhibitorias, que regulan de forma intrínseca la actividad de dicho núcleo (Xu et al., 2001; Ichida & Casagrande, 2002).

El 80% de las células del NGL son de proyección, existiendo 3 tipos celulares, parvocelulares (P), magnocelulares (M) y koniocelulares (K), cuyas características definiremos en detalle en el siguiente apartado (ver apartado 2.2: Tipos celulares en el NGL de primate). El 20% restante son interneuronas, las cuales se encuentran repartidas uniformemente por todo el núcleo.

Las capas del NGL (Fig. 2.1) se numeran dorso-ventralmente de la 6 a la 1, estando las células distribuidas de forma específica en las mismas, de manera que las capas de la 6 a la 3, las más dorsales, están formadas por células de tipo parvocelular, y las dos más ventrales, la 1 y la 2, por células de tipo magnocelular. Entre estas capas, existen otras de menor grosor donde se encuentran células de tipo koniocelular, de características intermedias entre los tipos magnocelular y parvocelular.

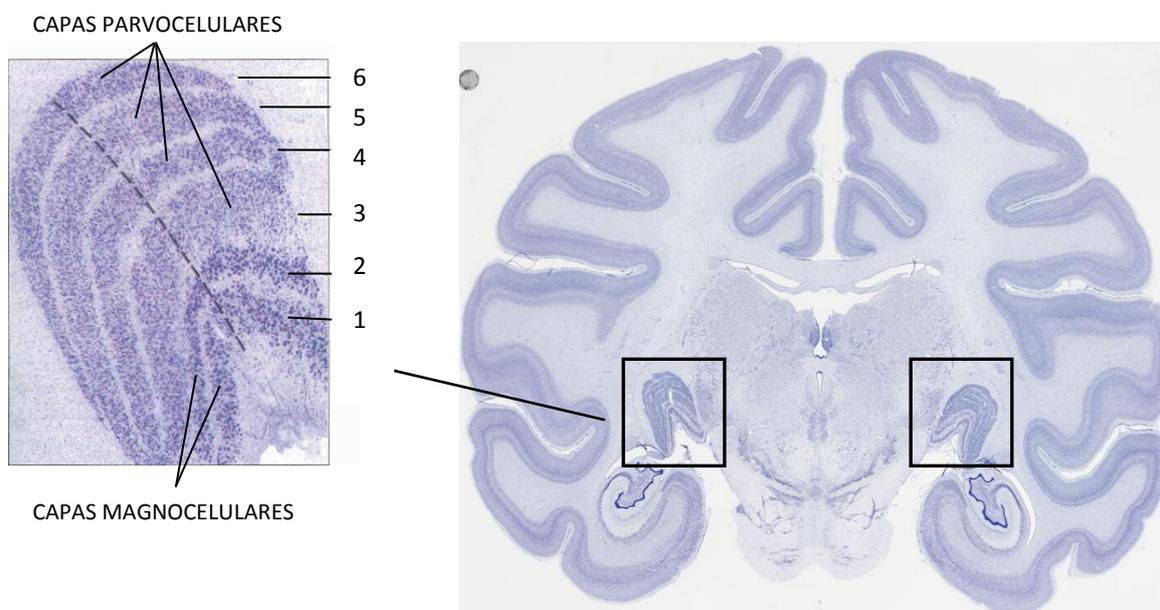


Fig 2.1 A la derecha, corte coronal de cerebro completo de mono adulto (*Macaca mulatta*), con coloración de Nissl, mostrando la ubicación de sendos NGLs. A la izquierda, ampliación del NGL mostrando la estructura en 6 láminas, siendo las 4 más dorsales (6-3) de tipo parvocelular, y las 2 más ventrales (1 y 2) de tipo magnocelular. Entre estas 6 láminas, aparecen otras bandas más finas y de color claro en las cuales encontraríamos el tercer tipo de células: koniocelular (de izquierda a derecha, imágenes adaptadas de: Schiller; <http://web.mit.edu/bcs/schillerlab>; Brain maps.org).

Como se ha mencionado anteriormente, cada una de estas capas recibe aferencias de una u otra retina, siendo estas aferencias contralaterales para las capas 6, 4 y 1, e ipsilaterales para las capas 5, 3 y 2, con lo cual la segregación de la información visual en función del ojo de procedencia y en dos vías paralelas y claramente diferenciadas se mantiene desde la retina hasta el tálamo, y de éste a la corteza (Hubel & Wiesel, 1966; Gouras, 1968; DeMonasterio & Gouras, 1975; Schiller & Malpeli, 1978; Kaplan & Shapley, 1986).

2.2 TIPOS CELULARES EN EL NGL EN PRIMATES

2.2.1 NEURONAS DE PROYECCIÓN DEL NGL

La primera clasificación de los tipos celulares presentes en el NGL fue realizado por Hubel y Wiesel en gato en los años 60 (Hubel, 1960; Hubel & Wiesel, 1961). Se describieron 2 tipos de células principales, X e Y, basándose en sus características fisiológicas. Posteriormente se caracterizó un tercer tipo celular, las células W.

Aunque en el primate las células de proyección talámicas no tienen exactamente las mismas propiedades que en el gato, se estableció un paralelismo entre los tipos celulares presentes en ambas especies, tanto por su segregación en capas (Schiller & Malpeli, 1978; Rodieck, 1979) como por sus características funcionales (Kaplan & Shapley, 1982). En la actualidad, aún se desconoce si este paralelismo entre ambas especies (y también con otros mamíferos) se debe a una relación de homología o analogía entre ellos (Van Hooser et al., 2005; Sherman & Guillery, 2006).

Como se introdujo en apartados anteriores, en el mono, reconocemos tres tipos de neuronas de proyección, que se diferencian por la naturaleza de sus aferencias, las características del campo receptor, y el tamaño y patrón de distribución de los axones y terminaciones axónicas: son los tipos magnocelular, parvocelular y koniocelular (Fig. 2.2).

Las células parvocelulares se distribuyen en cuatro capas, siendo las más dorsales del NGL. Son células con campos receptores de mediano y pequeño tamaño, que responden de forma óptima a frecuencias espaciales altas y frecuencias temporales bajas. Las células de tipo parvocelular responden con mayor intensidad a estímulos visuales de elevado contraste, y también al color (Kaplan & Shapley, 1982, 1986; Hicks et al., 1983; Derrington & Lennie, 1982; Derrington et al., 1984; Benardete et al., 1992; Spear et al., 1994; O'Keefe et al., 1998; Solomon et al., 1999; Usrey et al., 2000; Levitt et al., 2001; Mowshon et al., 2005; Allito et al., 2011).

Las células magnocelulares están ubicadas en las dos capas más ventrales del NGL (capas 1 y 2), son células con campos receptores de mayor tamaño que el tipo parvocelular, que responden preferentemente a frecuencias espaciales bajas y temporales altas, así como a estímulos con poco contraste y acromáticos (Kaplan & Shapley, 1982, 1986; Hicks et al., 1983; Derrington & Lennie, 1982; Derrington et al., 1984; Benardete et al., 1992; Spear et al., 1994; O'Keefe et al., 1998; Solomon et al., 1999; Usrey et al., 2000; Levitt et al., 2001; Mowshon et al., 2005; Allito et al., 2011).

Por último, las células koniocelulares, presentes en menor número, aparecen formando delgadas capas entre las capas de células magnocelulares y parvocelulares. Son un grupo heterogéneo de neuronas con características fisiológicas variables, algunas veces similares a las células de tipo magnocelular, y, en otras ocasiones, con características diferentes, como campos receptores con sensibilidad cromática para el azul/amarillo (Xu et al., 2001).

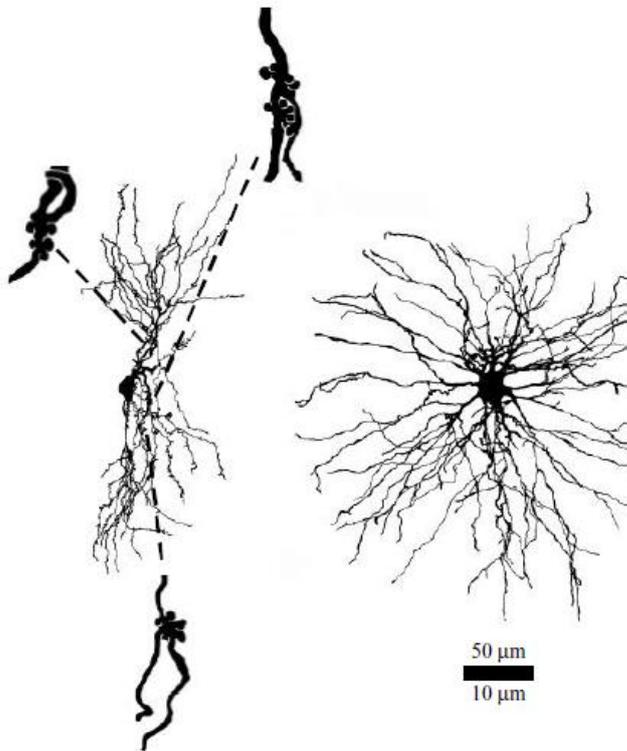


Fig. 2.2 Representación de 2 tipos de células de proyección talámicas, mostrando de izquierda a derecha, los tipos X e Y, equiparables a los tipos M y P en el tálamo de un primate (adaptado de Sherman & Guillery, 2002).

Entre las células magnocelulares y parvocelulares existen también diferencias en las latencias de respuesta ante estímulos visuales: la velocidad de conducción del impulso nervioso a través de los axones de las células de tipo parvocelular es menor que en las células de tipo magnocelular (Dreher et al., 1976; Schiller & Malpeli, 1978; Kaplan & Shapley, 1982), ya que normalmente los axones de las células magnocelulares suelen ser de mayor diámetro que los de las células parvocelulares.

Algunas diferencias más, descritas inicialmente en otras especies de mamíferos y aplicadas posteriormente al primate, estriban en la naturaleza de sus árboles dendríticos. Ya en el siglo XIX, Kölliger describió dos tipos celulares en el tálamo de diversas especies, las cuales clasificó como *radiales* y *en penacho* (del inglés "bushy"), y que más tarde fueron denominadas tipo 1 y tipo 2 respectivamente para el NGL de gato (Guillery, 1966) y el núcleo ventral posterior en galago (Pearson & Haines, 1980). El tipo 1 presenta dendritas que tienden a cruzar las capas del NGL, relacionándose este tipo celular con las células parvocelulares, mientras que en el tipo 2 las dendritas permanecen confinadas en la misma capa en la que se encuentra el soma neuronal, y nos estaríamos refiriendo a las células magnocelulares (Sherman and Guillery, 2006). Todas estas diferencias ponen de manifiesto la existencia de dos vías paralelas de transmisión de la información visual desde la retina hasta el NGL y de éste a la corteza.

Estudios recientes determinan también la existencia de esta misma segregación en las aferencias retrógradas desde la corteza hacia el tálamo, al existir tres tipos definidos de neuronas corticales equivalentes a los tres tipos de neuronas talámicas (Briggs & Usrey, 2009a, b, c; 2011). La implicación funcional de esta segregación de la información es, probablemente, una optimización de la capacidad de procesamiento simultáneo de información visual, debido a la inmensa cantidad de estímulos sensoriales recibidos desde exterior.

2.2.1.1 CAMPOS RECEPTORES DE LAS NEURONAS DE PROYECCIÓN

La estructura de los campos receptores (CR) de las células ganglionares de la retina fue descrita por primera vez por Kuffler en 1953, utilizando como modelo experimental el gato. Posteriormente, Hubel y Wiesel (1966) describieron la estructura de los CR de células talámicas en primates, especie que posee un sistema visual mucho más semejante al humano. No sólo la estructura de los campos receptores resultó ser muy parecida en ambos modelos experimentales, sino que en las células de proyección talámicas, los CRs presentan la misma organización que en las células de la retina (Hubel, 1960).

La definición clásica de campo receptor es el área del espacio en la cual la presentación de un estímulo luminoso causa cambios en la actividad de una neurona, inhibiendo o aumentando su frecuencia de disparo (Kuffler, 1953; Hubel & Wiesel, 1959). Los campos receptores, tanto en las células ganglionares de la retina como en el NGL, se caracterizan por estar bien definidos, ser concéntricos, y presentar una estructura en centro y periferia antagonistas, cuya finalidad es medir el contraste entre intensidades luminosas.

En función de la naturaleza del centro del campo receptor, estos se clasifican en ON y OFF, o lo que es lo mismo, excitadores o inhibidores. Las células ON son aquellas que responde a la presencia de luz, mientras que las células OFF responden a la disminución de la intensidad luminosa. El centro y la periferia del campo receptor son antagonistas, de manera que una célula ON tendrá una periferia OFF inhibidora y viceversa.

El tamaño de los campos receptores varía en función del tipo de célula al que nos refiramos, (M, P ó K) y de la posición que dicha célula ocupe en la retina. Así, en el *area centralis* del gato o fovea de la retina del primate, zonas de mayor agudeza visual, los campos receptores son de pequeño tamaño, aumentando a medida que nos alejamos de este punto, de manera que las células de las áreas marginales de la retina reciben aferencias desde varios fotorreceptores, mientras que en las áreas centrales, cada célula ganglionar establece conexión con un único fotorreceptor. Esta característica se mantiene en diversas especies de primates, apareciendo, por ejemplo, tanto en el grupo de los platirrininos como en catarrinos (Silveira et al., 2004). El tamaño del campo receptor se encuentra íntimamente relacionado con el tamaño del árbol dendrítico, siendo ambos directamente proporcionales y generando diversos subgrupos dentro de la clasificación (Martin et al., 2001).

Existe una estrecha relación entre las características de los campos receptores retinianos y los campos receptores de las neuronas talámicas, debido a que la aferencia retiniana es la principal entrada sensorial al NGL. También existen grandes similitudes entre los tipos celulares existentes

en ambas estructuras, segregándose ya desde la retina vías paralelas de procesamiento de la información visual, las cuales se mantendrán hasta llegar a la corteza (Tolhurst et al., 1973; Lennie, 1980).

Sin embargo, la corteza visual posee un papel fundamental en la transmisión de información desde el NGL, ya que las aferencias retrógradas de la corteza hacia éste, las cuales constituyen la vía córtico-talámica, son la principal aferencia moduladora del tálamo, constituyendo aproximadamente un 30% de todas las entradas sinápticas a este núcleo (Erisir et al., 1997; Van Horn et al., 2000; Sherman & Guillery, 2002). El papel de la corteza, por tanto, es fundamental para regular cómo se transmite la información visual proveniente de la retina hacia centros superiores.

En el NGL, existe un equilibrio entre el número de células tipo ON y OFF existentes en las distintas capas, apareciendo, generalmente, una mayor proporción de células con campos receptores tipo ON en las capas parvocelulares y de tipo OFF en las capas magnocelulares (Levitt et al., 2001). Sin embargo, en la especie de primate utilizada para nuestros experimentos (*Macaca mulatta*), existen ciertas variantes respecto a la norma general en la distribución de los tipos celulares en las capas parvocelulares: existe un mayor número de células con campos receptores tipo ON en las capas 5 y 6, siendo prácticamente todas las neuronas de estas capas tipo ON, mientras que en las capas 3 y 4, el balance entre células ON y OFF se encuentra más equilibrado (Schiller & Malpeli, 1978; Levitt et al., 2001). Actualmente, se desconoce el significado de estas diferencias en la proporción de células de cada tipo, y de su variabilidad entre especies.

2.2.2 INTERNEURONAS

Las interneuronas (Fig. 2.3) son el segundo tipo celular existente en el NGL. Son células inhibitoras y GABAérgicas, morfológicamente diferentes a las neuronas de proyección, con un soma de pequeño tamaño, presentando largas dendritas, denominadas axoniformes por la complejidad y forma de sus terminales (Sherman & Guillery, 2006), cuya finalidad es recorrer extensas distancias aunque siempre dentro del propio núcleo (Wilson & Hendrickson, 1988).

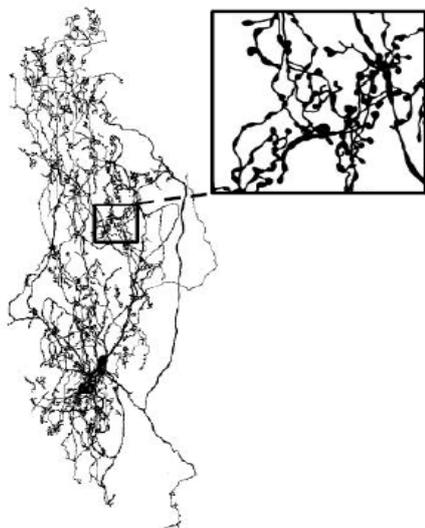


Fig. 2.3 Interneurona de la lámina A del NGL del gato, mostrando en la ampliación los botones presinápticos de la misma (adaptado de Sherman & Guillery, 2002).

El número de interneuronas existentes varía en función de la especie y del propio núcleo talámico (Arcelli et al., 1997), habiendo llegado a describirse en mono un máximo de 35% de interneuronas en las capas magnocelulares (Montero, 1986), si bien la media oscila en torno a un 20-25%, al igual que ocurre en gato (LeVay & Ferster, 1979).

Se han establecido numerosas clasificaciones de interneuronas en función de diversos rasgos, por ejemplo, en base al territorio ocupado por el axón en comparación con las dendritas (Tömböl, 1969), al tamaño de su soma (Montero & Zempel, 1985), en función de su respuesta a ciertos neurotransmisores (Carden & Bickford, 2002), pero en la actualidad se desconoce con exactitud, al menos en primate, cuántos tipos diferentes de interneuronas existen.

Las interneuronas establecen principalmente sinapsis dendro-dendríticas con las células de proyección talámicas, aunque también se han descrito sinapsis axónicas con las mismas, (Bloomfield & Sherman, 1989; Erisir et al., 1997), por lo que se ha llegado a postular la teoría de que estas interneuronas podrían formar “redes” en las cuales se segregaría la información enviada a diferentes grupos de neuronas de proyección a través de uno u otro tipo de sinapsis.

De hecho, aunque las interneuronas reciben aferencias principalmente retinianas (excitadoras), también reciben aferencias desde el tronco del encéfalo (inhibidoras), respondiendo mediante dos vías: axónica y dendrítica. La respuesta axónica es debida a los terminales sinápticos denominados F1, que actúan exclusivamente a nivel presináptico, estableciendo conexiones con el soma o dendritas proximales, ya que las dendritas distales se encuentran demasiado lejos del cono axónico como para generar una respuesta (Cox et al., 1998; Cox & Sherman, 2000).

Sin embargo, la respuesta dendrítica se produce a través de los terminales de tipo F2 distales, los cuales están regulados por sinapsis locales, y funcionan tanto a nivel pre- como postsináptico (Guillery, 1969; Ralston, 1971; Famiglietti & Peters, 1972; Hamos et al., 1987; Montero, 1986). En estos terminales, se establecen contactos provenientes de la corteza visual, provocando excitación sobre las interneuronas, y consecuentemente, inhibición de las neuronas de proyección talámicas.

2.3 AFERENCIAS TALÁMICAS

En el tálamo, podemos diferenciar dos tipos de aferencias: las principales (del inglés, *drivers*) y las moduladoras (*modulators*) (Sherman and Guillery, 1998), ambas caracterizadas por un conjunto de propiedades fisiológicas y morfológicas concretas.

La diferencia más destacable entre ambos tipos de aferencias es funcional, de manera que las aferencias principales determinan la información que se envía al NGL, mientras que las aferencias moduladoras modifican el tratamiento que se hace de dicha información, determinando por ejemplo la cantidad o modo en que esta información es transmitida (Sherman & Guillery, 2006).

2.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS AFERENCIAS PRINCIPALES Y MODULADORAS

Basándonos en que ambos tipos de aferencias tienen funciones diferentes, observamos que también presentan diferencias estructurales. Las aferencias principales se caracterizan por determinar la estructura del CR de las células de relevo talámicas (Hubel & Wiesel, 1961; Cleland et al., 1971; Cleland & Lee, 1985; Mastronarde, 1987a; Usrey et al., 1999), activar principalmente receptores ionotrópicos que generan PEPSs rápidos en términos de latencia y duración (revisado por Sherman & Guillery, 1998, 2004), poseer dianas donde confluyen un máximo de 30 aferencias, las cuales tienen zonas de terminales sinápticos bien definidos, grandes y con botones sinápticos de tipo RL (redondeados y grandes, del inglés round and large) y ser glutamatérgicas, y por tanto excitadoras (Cleland et al., 1971; Cleland & Lee, 1985; Mastronade, 1987a; Usrey et al., 1999).

Por el contrario, las aferencias moduladoras activan ambos tipos de receptores, ionotrópicos y metabotrópicos, generando tanto PEPSs cortos y rápidos, como PEPSs lentos en latencia y sostenidos en el tiempo, respectivamente. Presentan diferentes patrones a la hora de establecer sinápsis, con botones sinápticos menos agrupados y más dispersos que en el caso de las aferencias principales. Otras características son que existe una elevada convergencia de aferencias en la diana, poseen axones más delgados y utilizan diferentes neurotransmisores (glutamato, acetilcolina, GABA y Óxido Nítrico o NO) en función de la estructura de la que provengan (corteza, tronco encefálico y núcleo reticular talámico/interneuronas) (Sherman & Guillery, 2006).

2.3.2 AFERENCIAS PRINCIPALES Y MODULADORAS DEL NGL

2.3.2.1 AFERENCIAS PRINCIPALES

En el NGL, la principal aferencia es la proveniente de la retina, existiendo importantes similitudes entre las propiedades de los campos receptores de las células ganglionares retinianas y de las células de proyección talámicas (Cleland et al., 1971; Sherman & Spear, 1982; Cleland & Lee, 1985; Shapley & Lennie, 1985; Sherman, 1985; Usrey et al., 1998).

Aunque este hecho no es una característica indispensable para que una aferencia sea considerada principal, si es una de las múltiples características exclusivas de estas aferencias que las distinguen de las moduladoras (Sherman & Guillery, 2006). El hecho de que entre dos estructuras interrelacionadas, retina y NGL, se establezca un paralelismo a nivel de sus características estructurales y fisiológicas, conlleva la realización de una función similar.

Cada célula de proyección talámica recibe aferencias de una o dos células ganglionares, si bien como el número de células en el NGL es muy superior al número de células retinianas (Levick et al., 1972), éstas envían aferencias a un pequeño conjunto de neuronas, generando una sincronización en la respuesta del NGL debido a la entrada sináptica simultánea,

la cual aumenta la eficacia de transmisión de información al tálamo (Alonso et al., 1996; Usrey et al., 1998).

En la retina, encontramos diferentes tipos celulares semejantes a los existentes en el NGL, estableciéndose desde estadios iniciales del procesamiento visual, una segregación de la información en diferentes vías, la cual se mantendrá hasta alcanzar la corteza.

2.3.2.2 AFERENCIAS DESDE LA RETINA

Las aferencias retinianas se originan en las células ganglionares, las cuales se clasifican en tres tipos en el gato, Y, X e W (Enroth-Cugell & Robson, 1966; Cleland et al., 1971), y en parvocelulares, magnocelulares y koniocelulares en primates (De Monasterio & Gouras, 1975; De Monasterio et al., 1975 a, b; De Monasterio 1978 a, b; Rodieck et al., 1985; Dacey & Petersen, 1992; Kolb et al., 1992; Dacey 1993a). Cada uno de estos tipos envían aferencias específicamente a cada uno de los tres tipos de neuronas talámicas de proyección (revisado por Livingstone & Hubel, 1987; Schiller & Logothetis, 1990; Shapley, 1992; Merigan & Maunsell, 1993; Casagrande & Kaas, 1994; Dacey, 2000; Hendry & Reid, 2000; Callaway, 2005; Field & Chichilnisky, 2007), existiendo un paralelismo entre las propiedades de las células talámicas y retinianas que establecen conexión entre sí.

En el gato, basándose en la clasificación realizada por Enroth-Cugell y Robson en 1966, Cleland y colaboradores (Cleland et al., 1971) establecieron una subdivisión celular semejante, diferenciando las células ganglionares en función de su tipo de respuesta, pudiendo ser ésta sostenida o transitoria (lo que sería equivalente a los tipos celulares X e Y respectivamente). Según esta división, las células ganglionares de tipo Y, equivalentes a las células ganglionares tipo M en primates (Fig. 2.4B), poseen elevadas velocidades de conducción axónica, campos receptores de gran tamaño, se encuentran ampliamente distribuidas por la retina, responden de forma transitoria ante contrastes estáticos, presentan una respuesta espacial no lineal y poseen buena respuesta ante objetos en movimiento, y por tanto están relacionadas con la detección del mismo.

Sin embargo, las células de tipo X se encuentran concentradas en la zona central de la retina (*area centralis*, punto de mayor agudeza visual), poseen campos receptores pequeños, velocidad de conducción axónica lenta, presentan una respuesta sostenida ante contrastes estáticos y responden mal ante estímulos en movimiento, características que las relacionan con la agudeza visual. Este tipo celular sería el equivalente a las células de tipo parvocelular en las células ganglionares de los primates (Fig. 2.4C).

Por último, las células de tipo W (análogas a las células de tipo koniocelular, Fig. 2.4A) están consideradas el grupo filogenético más antiguo de los tres descritos, presentando la conducción axónica más lenta, con campos receptores grandes y situados en la zona periférica de la retina. (Cleland et al., 1971; Cleland & Levick, 1974). También existe una pequeña proporción de células ganglionares con características intermedias entre las células transitorias y sostenidas (tipos magnocelular y parvocelular respectivamente, en primate).

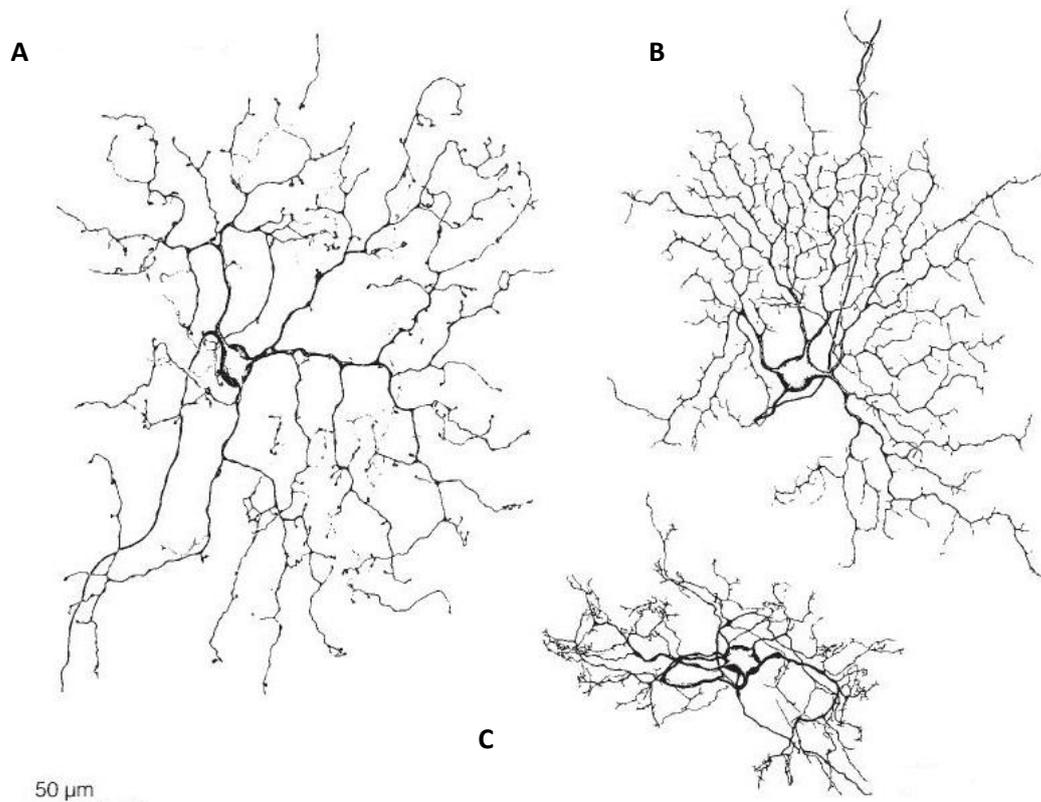


Fig. 2.4 Ejemplo de los distintos tipos de células ganglionares en retina de macaco (*Macaca mulatta*). **A)** Célula ganglionar tipo koniocelular **B)** Célula ganglionar magnocelular **C)** Célula ganglionar de tipo parvocelular. (Adaptado de Dacey & Lee, 1994)

Las células magnocelulares y parvocelulares se encuentran en todos los primates diurnos y nocturnos (Rodieck et al., 1985; Dacey & Petersen, 1992; Kolb et al., 1992), existiendo una representación numérica diferente de ambos tipos celulares en la retina. Las células de tipo P constituyen aproximadamente el 80% del total de células ganglionares, mientras que las células de tipo M representan el 10% de la población celular (Perry et al., 1984; Silveira & Perry, 1991). El 10% restante se dividiría entre las células de tipo koniocelular y las células de características intermedias entre los tipos M y P.

2.3.2.3 AFERENCIAS MODULADORAS

Además de la aferencia retiniana, el NGL cuenta con otras aferencias provenientes de diferentes estructuras, tales como el núcleo reticular talámico (NRT), el tronco encefálico y la propia corteza visual (Fig. 2.5). Estas aferencias son moduladoras, y es representativo el hecho de que supongan un porcentaje muy superior al número de aferencias provenientes de la retina, en una proporción de 10:1 respecto a éstas últimas (Van Horn et al., 2000; Wang et al., 2002).

El NRT es una delgada capa de células que se sitúa dorsalmente sobre el NGL, y que en el sistema visual recibe el nombre de núcleo perigeniculado (NPG) debido a su posición. Este núcleo envía aferencias GABAérgicas (mediadas por receptores GABA_A y GABA_B), y por tanto inhibitorias (Bowerly et al., 1984, 1987) al NGL.

El NRT desarrolla un papel fundamental en la modulación de la actividad talámica y de la transmisión de información hacia la corteza. Está implicado, por ejemplo, en la configuración de los campos receptores de las neuronas de proyección talámicas o en el cambio de patrón de disparo en función del estado conductual del sujeto (despierto/dormido) (Cudeiro & Rivadulla, 2002). Estudios recientes determinan la influencia de la atención sobre este núcleo, inhibiéndolo ante una atención directa a un estímulo visual, y por tanto aumentando la respuesta neuronal en el NGL (McAlonan et al., 2008).

El tronco encefálico envía aferencias moduladoras al NGL desde tres áreas principalmente: la región peribranquial, el locus coeruleus y los núcleos del rafe.

En las aferencias de la región peribranquial, se encuentran implicados los neurotransmisores acetilcolina y óxido nítrico (NO) (De Lima et al., 1985; De Lima & Singer, 1987a, b; Fitzpatrick et al., 1988; Bickford et al., 1993). La acetilcolina posee un doble efecto sobre las células de relevo talámicas: por una parte, genera un potencial excitador postsináptico (PEPS) activando dos tipos de receptores, uno nicotínico que actúa en primer lugar generando el componente rápido del PEPS, y uno muscarínico que actúa a continuación promoviendo una despolarización lenta y duradera de las neuronas de proyección, que se traduce en una predominancia de la respuesta tónica. Al mismo tiempo, la acetilcolina inhibe las interneuronas del propio NGL, así como al NRT, evitando la inhibición de las células de relevo por éstas (McCormick & Prince, 1987; McCormick, 1989), y aumentando la actividad talámica.

El NO es un neurotransmisor atípico debido principalmente a su naturaleza gaseosa. Esta característica confiere al NO patrones de liberación específicos, lo cual le proporciona ciertas ventajas a nivel fisiológico, como una elevada capacidad de difusión por grandes áreas de tejido (Garthwaite & Boulton, 1995; Cudeiro & Rivadulla, 1999). El NO se libera en aquellos lugares en los que los axones colinérgicos contactan con las neuronas talámicas, estando su liberación regulada por los canales de Ca²⁺ voltaje dependiente, de manera que si reducimos la cantidad de NO liberado, la tasa de disparo de las neuronas talámicas y del NPG disminuye (Cudeiro et al., 1996; Cudeiro & Rivadulla, 1999).

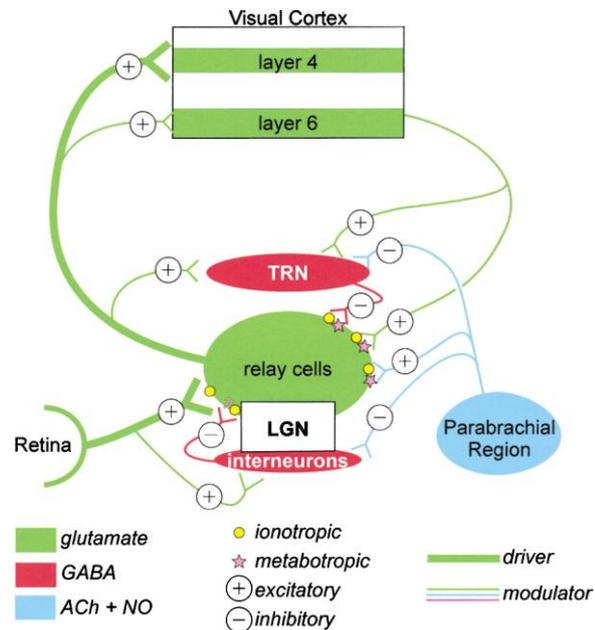
VÍA VISUAL

Fig. 2.5 Representación esquemática de la vía visual, mostrando las aferencias principales (retina) y moduladoras (NRT, Tronco Encefálico-PBR y Corteza Visual), indicándose en el caso de éstas últimas, cuales son inhibitorias (-) y cuales excitadoras (+). El color verde se utiliza para las vías glutamatérgicas, el rojo para las gabaérgicas y el azul para las colinérgicas y NO. (Adaptado de Sherman y Guillery, 2002).

De otras regiones del tronco del encéfalo, *locus coeruleus* y núcleos del rafe, parten dos tipos de fibras, noradrenérgicas y serotoninérgicas respectivamente. Las aferencias noradrenérgicas son excitadoras y afectan tanto a las células de proyección como al NRT. El efecto de las aferencias serotoninérgicas es complejo y no hay un criterio unificado al respecto (McCormick, 1989, 1992; Funke et al., 1993).

Como mencionamos anteriormente, las neuronas talámicas envían sus axones a la corteza visual primaria, estableciendo sinapsis principalmente en capa 4, aunque también en las capas 2, 3 y 6. Además, desde la capa 6 parten de nuevo aferencias hacia el NGL, estableciéndose así un bucle de información entre ambas estructuras conocido como bucle tálamo-córtico-talámico. Las aferencias córticofugales son excitadoras y utilizan el glutamato como neurotransmisor, y actúan sobre las células talámicas modulando su actividad. De la vía córtico-talámica hablaremos en más detalle en apartados posteriores debido a su gran relevancia en el procesamiento visual.

2.4 LA CORTEZA VISUAL

En primates (incluyendo el hombre), la corteza visual abarca una gran extensión de la corteza cerebral, incluyendo el lóbulo occipital y zonas de los lóbulos parietal y temporal. El área de la corteza que recibe las aferencias del NGL se conoce como la corteza visual primaria (V1) y es en la que nos centraremos por ser la más relevante para el presente trabajo.

2.4.1 ESTRUCTURA DE LA CORTEZA VISUAL PRIMARIA

La corteza visual primaria es una fina lámina de sustancia gris de elevada complejidad estructural y funcional. En 1870, Meynert y Betz determinaron que la corteza visual primaria se encontraba dividida en capas, siendo pocos años después, en 1878, cuando Lewis sugirió que dicha estratificación consistía en una división en 6 capas celulares diferenciadas, estableciendo la estructura general del neocortex que se mantiene en la actualidad (Fig. 2.6). Estas capas se numeran de la 1 hasta la 6, partiendo de la superficie más externa de la corteza hasta la más interna, próxima a la sustancia blanca.

Ramón y Cajal (1911) fue quién realizó la primera descripción completa de dichas capas celulares, y por tanto, de la estructura interna de la corteza. Las seis capas que constituyen el neocortex son las siguientes: Capa 1 o plexiforme externa, Capa 2 y 3 constituidas por células piramidales de pequeño y mediano tamaño respectivamente, Capa 4 o granular interna, Capa 5 o de células piramidales de gran tamaño y Capa 6 o de células fusiformes (Valverde, 2002).

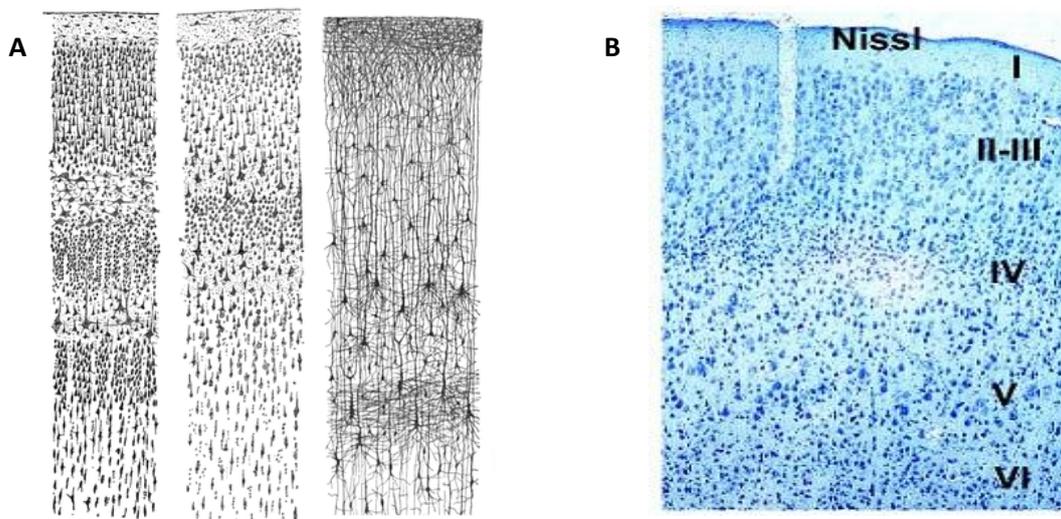


Fig. 2.6. A) Dibujo adaptado de las diferentes capas que constituyen la corteza cerebral por Ramón y Cajal. De izquierda a derecha: corteza visual en humano adulto, corteza motora en humano adulto y corteza en bebé de mes y medio B) Microfotografía de fluorescencia de neocortex en rata con tinción de Nissl para evidenciar los núcleos y somas de las neuronas en las diferentes capas (Adaptado de Peluffo, 2012)

En el mono, así como en la mayoría de los vertebrados, las principales aferencias que recibe la corteza provienen de los núcleos de relevo talámicos, en nuestro caso del NGL, aunque existen otro tipo de aferentes provenientes de la propia corteza, de otros núcleos talámicos (fibras de asociación corticales o callosas) y del tronco del encéfalo. (Casagrande et al., 2005).

La principal diana de las aferencias provenientes desde el NGL es la capa 4 de la corteza, la cual debido a este motivo, se encuentra muy engrosada. Esta capa se encuentra dividida en varias subcapas diferenciadas, de manera que los axones de los diferentes tipos celulares talámicos (magnocelular, parvocelular y koniocelular) llegan a diferentes zonas de esta capa, manteniendo una estratificación de la información hasta el nivel cortical (revisado por Briggs & Usrey, 2011).

Además, desde la capa 6 de la corteza parten aferencias córticofugales hacia el tálamo, y en esta capa existe una división semejante a la existente en capa 4. En el macaco, la capa 6 se subdivide en tres subcapas, de manera que las neuronas córtico-talámicas quedan confinados exclusivamente en las subcapas superior e inferior (Lund & Boothe, 1975; Hendrickson et al., 1978; Fitzpatrick et al., 1994; revisado por Briggs y Usrey, 2011). Las neuronas córtico-talámicas son neuronas glutamatérgicas excitadoras que envían aferencias al NGL, al núcleo reticular talámico y a capas superiores de la propia corteza, y que constituyen un pequeño porcentaje dentro de las neuronas existentes en la capa 6 de la corteza visual (son aproximadamente un 14% del total en el macaco; Fitzpatrick et al., 1994).

Sin embargo, las neuronas córtico-talámicas constituyen la aferencia moduladora más importante que recibe el NGL, más incluso que la proveniente de la retina (Guillery, 1969b; Erisir et al., 1997). Un caso semejante ocurre en capa 4 de la corteza visual, la cual recibe un mayor número de aferencias desde la capa 6 de la propia corteza que desde el NGL, y sin embargo esta capa es la principal diana de las aferencias talámicas (Ahmed et al., 1994).

En apartados posteriores determinaremos la relevancia de esta estratificación para el procesamiento de la información visual.

2.4.2 TIPOS CELULARES EN LA CORTEZA VISUAL

En la corteza visual, encontramos 2 tipos principales de células: las células piramidales y las no piramidales o interneuronas (Fig. 2.7). Las primeras son células de proyección, de tamaño grande, con un largo axón y una única dendrita apical, así como numerosas dendritas basales y espinas dendríticas. Se encuentran distribuidas por toda la corteza, enviando sus axones a otras regiones de la misma y hacia estructuras subcorticales, así como a otras neuronas locales, interconectándolas. Los axones de las neuronas piramidales son excitatorios y usan glutamato como neurotransmisor (Ichida & Casagrande, 2002). Son el 70% aproximadamente de total de las neuronas existentes en la corteza cerebral, siendo más abundantes en las capas 2, 3, 5 y 6 de la misma.

Las restantes células, las interneuronas, también denominadas células de axón corto o de tipo II de Golgi según la terminología clásica, se caracterizan porque su axón permanece dentro de la propia corteza. Han sido clasificadas en base a muy diversos criterios, como por ejemplo en función de la presencia o ausencia de espinas dendríticas o de la densidad de las mismas.

Sin embargo, es preciso tener en cuenta numerosos factores a la hora de clasificar estas células, tales como forma y distribución del árbol dendrítico, tamaño celular, tipo de neurotransmisor, etc (Valverde, 2002).

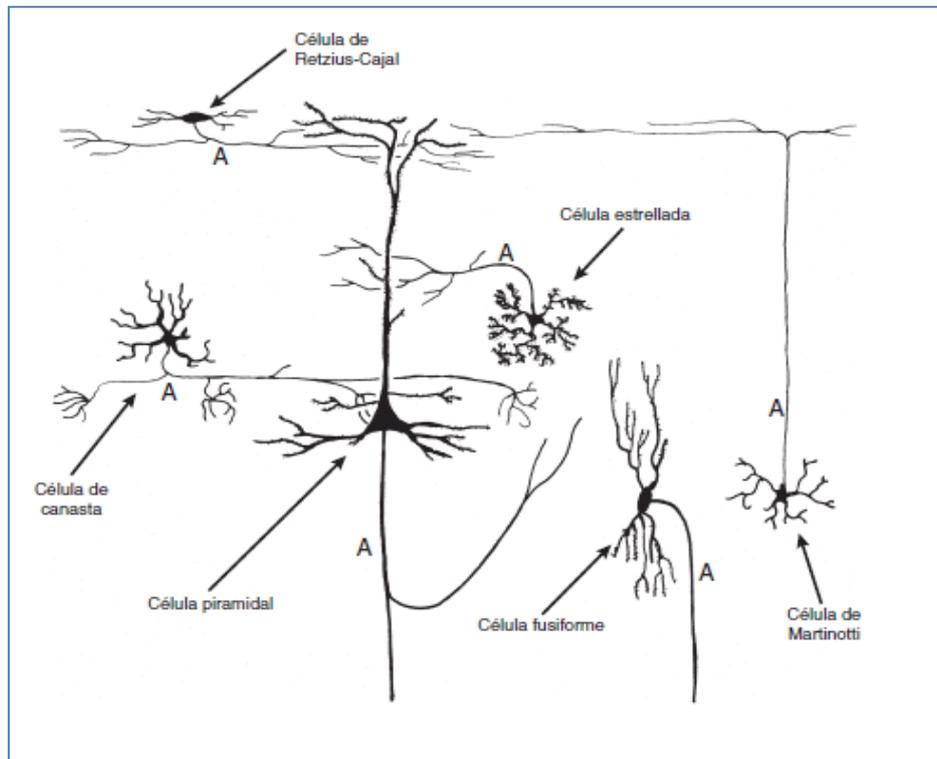


Fig. 2.7 Representación de los diferentes tipos celulares presentes en la corteza visual primaria. Las células piramidales y fusiformes son las encargadas de la continuidad de la transmisión de información siguiendo el feedback córtico-talámico y enviando sus axones a la sustancia blanca: son las denominadas células de proyección. Las interneuronas se clasifican en base a diversos criterios: las células en canasta y las células estrelladas poseen axones cortos y actúan a nivel local, siendo células GABAérgicas, y por tanto, inhibitoras. Las primeras se caracterizan por presentar espinas dendríticas mientras que las segundas carecen de ellas. Las células de Martinotti son un tipo de células de axón ascendente. Se encuentran en capas profundas de la corteza cerebral y envían sus axones a la capa molecular de la misma estableciendo sinapsis con las células piramidales. En esta misma capa se encuentran las células de Retzius-Cajal, las cuales son células fusiformes y horizontales que sinaptan a su vez con las células de proyección, y están relacionadas con estadios embrionarios.

Las interneuronas son células de pequeño tamaño y, normalmente, de axón corto encargadas de interconectar neuronas de proyección entre sí. Suelen presentar una forma característicamente estrellada y actúan a nivel local. Se diferencian diversos tipos:

Las *células estrelladas* constituyen un grupo heterogéneo, con variabilidad morfológica, tanto dendrítica como axonal. Al igual que las células piramidales, son excitadoras y utilizan glutamato como neurotransmisor. Son de gran importancia como elementos receptores de las fibras aferentes talámicas (Levy, 1973)

Las *células fusiformes* se encuentran en láminas de la corteza más profundas que las neuronas piramidales, y al contrario que éstas, poseen un cuerpo celular de forma elíptica, característica por la cual reciben su nombre. Estas células envían sus axones a otras regiones de la corteza, como fibras de proyección, asociación o comisurales, al igual que hacen las células piramidales. Sus dendritas se ramifican en la misma capa en la que se encuentra el soma o bien en capas más superficiales (Valverde, 2002).

Las *células en canasta*, descubiertas por Ramón y Cajal (1911) en corteza visual y motora del hombre, y descritas posteriormente en diversas áreas de la corteza del mono (Jones, 1975), son inhibitorias y gabaérgicas, al igual que las *células en candelabro*. Las primeras son células multipolares con dendritas lisas y axón desarrollado formando largas colaterales, características por las cuales reciben su nombre. Las segundas, las *células en candelabro*, se caracterizan por la morfología de sus axones, que presentan botones sinápticos dispuestos en hileras verticales, las cuales recuerdan al aspecto de una lámpara de brazos (Somogyi et al., 1982; Kisvárdy et al., 1986).

Otro tipo de interneurona inhibitoria es la *célula de axón ascendente*. Son células multipolares, con dendritas lisas o con un escaso número de espinas dendríticas. Si los somas de estas células se encuentran en capas profundas de la corteza, enviando axones hasta la capa molecular de la misma, se denominan *células de Martinotti*. Este tipo neuronal, descrito inicialmente por Ramón y Cajal en 1911, ha sido descrito posteriormente en corteza visual de mono (Lund, 1973).

2.4.2.1 TIPOS DE NEURONAS CÓRTICO-TALÁMICAS

Dentro del grupo constituido por las neuronas de proyección, existen un grupo de neuronas denominadas neuronas córtico-talámicas, las cuales mencionamos anteriormente. Estas neuronas se encuentran exclusivamente ubicadas en la capa 6 de la corteza visual y son las encargadas de enviar aferencias desde esta capa al NGL, constituyendo la vía córtico-talámica.

Como explicamos previamente, en el NGL existen 3 tipos celulares con distintas características, que reciben información de diversas clases de células ganglionares de la retina, y que envían axones con información visual diferente y complementaria mediante vías paralelas (tipos magnocelulares, parvocelulares y koniocelulares), sinaptando en subcapas distintas en capa 4 de la corteza (revisado por Schiller & Logothetis, 1990; Shapley, 1992; Merigan & Maunsell, 1993; Casagrande & Kaas, 1994; Casagrande 1994; Hendry & Calkins, 1998; Hendry & Reid, 2000; Briggs & Usrey, 2009a; Nassi & Callaway, 2009).

Así mismo, existen evidencias de que las mismas aferencias talámicas envían colaterales a capa 6 de la corteza, de manera que las neuronas de esta capa reciben información directamente del NGL a través de sus dendritas basales, y al mismo tiempo, también reciben aferencias de capas superiores de la corteza a través de sus dendritas apicales (Da Costa & Martin, 2009).

Por otro lado, estudios recientes determinan que en la capa 6 de la corteza existen diferentes tipos celulares análogos a los descritos en el NGL, y que la vía córtico-talámica sigue una estratificación también en su regreso hacia el NGL semejante a la existente en la vía tálamo-cortical (Briggs & Usrey, 2011).

Así, existen 3 tipos celulares en las denominadas neuronas córtico-talámicas, que serían los siguientes (Briggs & Usrey, 2007, 2009, 2011):

- a) El primer grupo está compuesto por células complejas con axones con alta velocidad de conducción (<7ms), con buena respuesta a estímulos de bajo contraste y elevadas frecuencias temporales (Hawken et al., 1988; Briggs & Usrey, 2007), con fuerte supresión de la periferia sobre el centro del CR y gran selectividad a la dirección del movimiento. Estas células serían semejantes al tipo magnocelular en el tálamo.
- b) El segundo grupo está constituido por células simples, con axones con velocidades de conducción moderada (7-15 ms), preferencia ante frecuencias temporales bajas y frecuencias espaciales altas, con menos supresión periférica y con respuestas lineales a los contrastes. Estaríamos hablando del tipo parvocelular (Briggs & Usrey, 2009c).
- c) El tercer y último tipo se relacionaría con las células de tipo koniocelular, presentando características intermedias entre los grupos descritos previamente. Son células complejas, con velocidades de conducción bajas (>15 ms), con buena respuesta a contrastes y frecuencias temporales altas, y con respuesta a la orientación o la dirección del estímulo no preferente.

Ciertos estudios con marcadores retrógrados en el NGL han demostrado que las distintas neuronas córtico-talámicas emiten axones a diferentes capas talámicas (Lund & Boothe, 1975; Hendrickson et al., 1978; Conley & Raczkowski, 1990; Fitzpatrick, 1994; Ichida & Casagrande, 2002), de manera que las neuronas del primer grupo descrito establecen conexiones en las capas magnocelulares del NGL, mientras que las neuronas descritas en el segundo grupo lo hacen en las capas parvocelulares, existiendo vías de conexión entre la corteza y el tálamo, al igual que ocurre con las aferencias principales (NGL - corteza).

La existencia de estos tres tipos celulares, la posición que ocupan a nivel anatómico y la existencia de una segregación de la información “de vuelta” hacia el NGL desde la corteza, confiere a las neuronas córtico-talámicas una gran relevancia a la hora de realizar su función sobre la actividad talámica.

Posiblemente, unas de las características más importantes de las aferencias córtico-talámicas sea su organización retinotópica (revisado por Cudeiro & Rivadulla, 2002), lo cual quiere decir que existe una importante organización espacial en el procesamiento de la información visual. Las neuronas córtico-talámicas promueven la actividad de aquellas neuronas talámicas cuyos campos receptores ocupan la misma posición en el espacio, e inhiben a las neuronas adyacentes, controlando selectivamente el paso de información.

Este tipo de organización espacial no es exclusivo del sistema visual, ya que ha sido observado en aferencias retrógradas del sistema somatosensorial (Canedo & Aguilar, 2000).

2.5 BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO

La información visual es transmitida desde la retina al tálamo y a la corteza, lugar en el cual se procesa generando una percepción visual. Sin embargo, y como ocurre en la mayoría de los sistemas sensoriales, las aferencias retrógradas desde áreas superiores (V1) hacia otros núcleos inferiores (NGL), cobran cada vez más relevancia durante el procesamiento de los estímulos visuales (revisado por Cudeiro & Sillito, 2006).

La constante interacción entre áreas corticales y subcorticales a través de las conexiones establecidas por el bucle tálamo-córtico-talámico, convierte la visión en un proceso dinámico, donde ambas estructuras colaboran continuamente en la interpretación de la información sensorial. Por ello, las aferencias córtico-talámicas constituyen una de las vías moduladoras más importantes existente en el sistema visual (Swadlow, 1983; Sherman & Guillery, 1996)

2.5.1 ESTRUCTURA DEL BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO

En primates, el NGL envía aferencias a la capa 4 de la corteza visual, como hemos mencionado anteriormente. Estas aferencias forman 3 vías diferenciadas y paralelas de flujo de información, de manera que los axones provenientes de las capas parvocelulares y los de las capas magnocelulares, llegan a diferentes regiones de la capa 4 de la corteza visual primaria (Fig. 2.8). Además, dichos axones envían colaterales, también de forma estratificada, a la capa 6 de la corteza, desde donde parten aferencias de regreso hacia el NGL, cerrando el bucle tálamo-córtico-talámico (Fig. 2.8).

De hecho, en primate (Fitzpatrick et al., 1994; Lund et al., 1975), así como en otras especies como el gato (revisado por Cudeiro & Sillito, 2006), diversos estudios anatómicos y electrofisiológicos, han determinado que las aferencias córtico-talámicas parten exclusivamente de esta capa 6 cortical, si bien existen múltiples diferencias entre ambas especies. El NGL del macaco presenta una mayor segregación a nivel funcional (Ichida & Casagrande, 2002), la cual se mantiene a lo largo de todo el bucle tálamo-córtico-talámico, siendo la gran mayoría de las aferencias que recibe el tálamo provenientes de V1 (Updyke, 1975), y tan sólo algunas, de áreas extraestriadas. Sin embargo, en el gato, existen un mayor número de proyecciones de diferentes áreas corticales (17, 18 y 19), y también fuertes aferencias hacia áreas extraestriadas.

Las aferencias talámicas a la corteza desde las células magnocelulares, establecen sinápsis en la subcapa 4C α de V1, mientras que las células parvocelulares sinaptan en la capa 4C β . En el caso concreto del macaco, así como en otras especies, las células de tipo koniocelular envía aferencias a capa 1 y a capa 4A (Briggs & Usrey, 2009a, 2011). Estas aferencias también envían colaterales a capa 6 de la corteza, siendo la diana de las células parvocelulares la parte superior de la misma, mientras que las colaterales de las células magnocelulares sinaptan en la subcapa inferior.

En el caso del primate, las neuronas córtico-talámicas son un pequeño porcentaje del total de neuronas corticales, encontrándose ubicadas exclusivamente en estas dos subcapas, sin existir

en la zona intermedia (Lund & Boothe, 1975; Hendrickson et al., 1978; Fitzpatrick et al., 1994). En otras especies como el gato, el número de neuronas córtico-talámicas es superior y su distribución, diferente, de manera que, por ejemplo, desde la zona inferior de capa 6, parten fuertes aferencias al claustrum (Usrey & Fitzpatrick, 1996). Sin embargo, en primate, en la parte más inferior de capa 6, existe un grupo de neuronas córtico-talámicas que probablemente envían aferencias al pulvinar (Conley & Raczkowski, 1990; Bourassa & Deschenes, 1995; Usrey & Fitzpatrick, 1996; Van Horn & Sherman, 2004).

En relación con la segregación funcional en el bucle tálamo-córtico-talámico, y como se explicó en el apartado anterior, estudios recientes (Briggs & Usrey, 2007, 2009, 2011) han determinado la existencia de tres tipos de neuronas córtico-talámicas de características semejantes a las neuronas talámicas, que se encontrarían situadas en diferentes regiones de la capa 6 de la corteza, de manera que las conexiones hacia el tálamo mantendrían el patrón de estratificación de la información en vías paralelas observado en las aferencias talámicas. De la subcapa superior de capa 6, que contiene neuronas del grupo 2 (descrito previamente, y equivalente al tipo parvocelular talámico), parten axones que establecen conexiones en las capas parvocelulares del NGL, mientras que las aferencias de la subcapa inferior, con neuronas del tipo 1, sinaptan en las capas magnocelulares (Fitzpatrick et al., 1994; revisado por Briggs & Usrey, 2011).

Un pequeño porcentaje de neuronas córticotálámicas envían aferencias únicamente a capas koniocelulares, y otro pequeño grupo establece conexiones conjuntamente en capas koniocelulares del NGL y en las capas P y M (Fitzpatrick et al., 1994; Usrey & Fitzpatrick, 1996; Ichida & Casagrande, 2002).

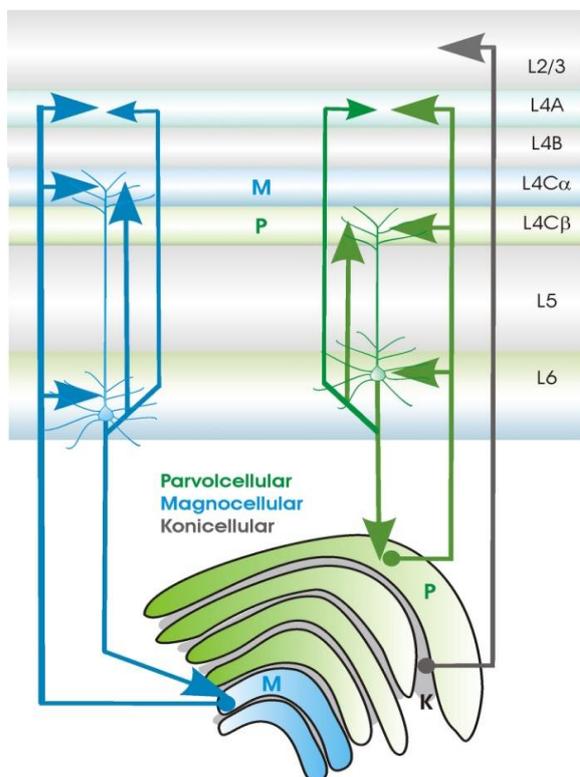


Fig. 2.8 Representación de las aferencias talámicas hacia las diferentes capas de la corteza visual primaria, diferenciadas según los 3 tipos celulares presentes en el NGL. A la derecha, en color verde, se representan las aferencias desde las capas parvocelulares, y a la izquierda, en azul, las correspondientes a las capas magnocelulares. Ambos tipos celulares envían aferencias a la capa 4A de la corteza, así como a la capa 4C, aunque en ésta última, lo hacen a zonas diferentes. Las células parvocelulares envían sus aferencias a la subcapa 4Cβ, mientras que el tipo magnocelular lo hace a la subcapa 4Cα. En ambos casos, las aferencias envían colaterales a capa 6, existiendo también una segregación espacial para las zonas en la cual sinaptan (tipo parvocelular, zona superior de la capa, tipo magnocelular, zona inferior). Por último, a la derecha del gráfico, se representan las aferencias a capa 2/3 de las células de tipo koniocelular, en gris (Adaptado de Thomson, 2010).

Además de la clara evidencia de que las neuronas córtico-talámicas de las subcapas superior e inferior de capa 6 de la corteza pertenecen a vías diferentes de procesamiento de información, existen más indicios que corroboran el mantenimiento de una estratificación funcional a lo largo de todo el circuito. Los axones de capa 6 sinaptan a nivel local con la capa 4 de la corteza visual, también de forma estratificada: las neuronas de la parte superior de capa 6 (tipo 2) envían sus axones a capa 4C β y 4A (dianas parvocelulares) mientras que las neuronas de la subcapa inferior (tipo 1) mandan sus aferencias principalmente a capa 4C α (diana magnocelular) (Lund & Boothe, 1975; Wiser & Callaway, 1996; revisado por Briggs & Usrey, 2011). Por otro lado, mientras algunas neuronas de capa 6 reciben una cantidad semejante de aferencias desde capa 4C α y 4C β , otras neuronas reciben un número de aferencias mucho mayor y de forma indiscriminada desde cualquiera de las dos capas (Briggs & Callaway, 2001). Todos estos datos corroboran la existencia de un bucle tálamo-córtico-talámico en primate con una clara estratificación funcional a lo largo de todo el circuito.

2.6 PATRONES DE DISPARO NEURONAL EN EL NGL

2.6.1 INTRODUCCIÓN

En el NGL existen dos tipos de respuesta neuronal, el modo tónico y las ráfagas de bajo umbral, definidas por el estado de polarización de la membrana celular, y que están relacionadas con la forma en la cual se produce la transmisión de información entre el tálamo y la corteza. En condiciones de despolarización, las células disparan en modo tónico, generando potenciales de acción individuales de frecuencia variable, mientras que ante estados de hiperpolarización de la membrana, las neuronas responden mediante ráfagas de bajo umbral.

La generación de uno u otro estado de respuesta depende de la activación de los canales de Ca²⁺ voltaje dependientes tipo T (los cuales se de-inactivan por una hiperpolarización sostenida de la membrana), generándose una corriente de Ca²⁺ hacia el interior celular (I_T), la cual produce una espiga de calcio de bajo umbral. Si esta espiga tiene la duración suficiente, genera un conjunto de potenciales de acción clásicos de elevada frecuencia, típicos del disparo en ráfaga (Jahnsen & Llinás, 1984a, b; Steriade & Llinás, 1988).

Durante mucho tiempo, el disparo tónico se consideró la única forma fehaciente de transmisión de información a la corteza, al ser la predominante durante los estados de vigilia y actividad, contrariamente a las ráfagas, que son más abundantes durante el sueño, la anestesia e incluso ciertas patologías neurofisiológicas (Steriade & McCarley, 1990; Steriade et al., 1993a, b; Sherman, 2001). De hecho, en los primeros estudios realizados in vivo, se encontraron ráfagas que aparecían de forma rítmica asociadas al sueño de ondas lentas (Livingsstone & Hubel, 1981; Steriade & McCarley, 1990; Steriade et al., 1993b). Al no haber indicios de esta actividad rítmica en estados de vigilia, se consideró que estas espigas de bajo umbral quedaban relegadas a estados de “desconexión” o no transmisión de información a la corteza.

Sin embargo, estudios llevados a cabo posteriormente indican no sólo la existencia de ráfagas en animales despiertos (durante actividad espontánea), sino también durante la transmisión de información a la corteza, determinando una función activa en el procesamiento de la información sensorial previamente al llevado a cabo a nivel cortical (Guido et al., 1992; Guido and Weyand, 1995; Mukherjee and Kaplan, 1995; Sherman, 1996; Reinagel et al., 1999; Edeline et al., 2000; Ramcharan et al., 2000).

En los núcleos talámicos de todas las especies animales estudiadas hasta el momento, se han encontrado células que disparan en ráfagas o espigas de bajo umbral (Deschênes & Steriade, 1984; Jahnsen & Llinás, 1984a, b; Hernández-Cruz & Pape, 1989; McCormick & Feese, 1990; Scharfman et al., 1990; Bal et al., 1995, Sherman & Guillery, 2001), sugiriendo que este patrón de disparo neuronal posee una función concreta y relevante en la transmisión de información, al mantenerse constante su existencia a nivel interespecífico.

En los últimos años, la hipótesis lanzada inicialmente por Francis Crick (1984) desde unos postulados puramente teóricos, denominada “searchlight”, y desarrollada posteriormente por Murray Sherman (Sherman, 1996, 2001, 2007; Sherman & Guillery, 2002, 2006), ha ido cobrando cada vez más fuerza respecto al papel de las ráfagas en el procesamiento de la visión.

Esta hipótesis postula que el tálamo es la puerta de entrada de la información visual a la corteza, y que en él, las ráfagas actúan detectando estímulos novedosos y centralizando la atención cortical en los mismos, actuando como una “llamada de atención” para la corteza.

2.6.2 TIPOS DE DISPARO NEURONAL EN EL NGL

Definir un potencial de acción tónico es relativamente sencillo, ya que estos se corresponderían con los potenciales de acción conocidos como clásicos o convencionales, producidos por la permeabilidad selectiva de la membrana celular, mediante canales voltaje-dependiente, para los iones Na^+ y K^+ , generando una despolarización de la membrana seguida de una hiperpolarización de la misma, para regresar de nuevo a un estado de equilibrio (potencial de reposo o membrana).

La generación del potencial de acción clásico fue descrita en los años 50 por Hodgkin y Huxley (1952), como resultado de una serie de brillantes experimentos realizados en el axón gigante de calamar. El potencial de reposo de la membrana de una neurona de proyección talámica en mamíferos es de -65/-70 mv, como resultado de la separación de cargas iónicas a ambos lados de la membrana. Cuando la neurona es estimulada, la membrana se despolariza y responde mediante potenciales de acción individuales con una frecuencia y duración proporcionales a las características del estímulo.

Además de la conductancia a los iones Na^+ y K^+ , la conductancia de bajo umbral al Ca^{2+} es la más importante en las células de proyección talámicas, y de hecho, el mecanismo subyacente a las ráfagas tiene su origen en dicha conductancia y en la corriente I_T asociada a la misma (Fig. 2.9).

Las ráfagas de bajo umbral se generan cuando la corriente I_T se encuentra de-inactivada, para lo cual es preciso que se produzca una hiperpolarización previa de la membrana de una duración mínima de 50 ms. Por el contrario, durante la respuesta tónica, I_T se encuentra inactivada debido al estado de despolarización de la membrana, impidiéndose la entrada de calcio al interior celular y generándose potenciales de acción convencionales (Ramcharan et al., 2000; Gutierrez et al., 2001).

LA ESPIGA DE CALCIO DE BAJO UMBRAL

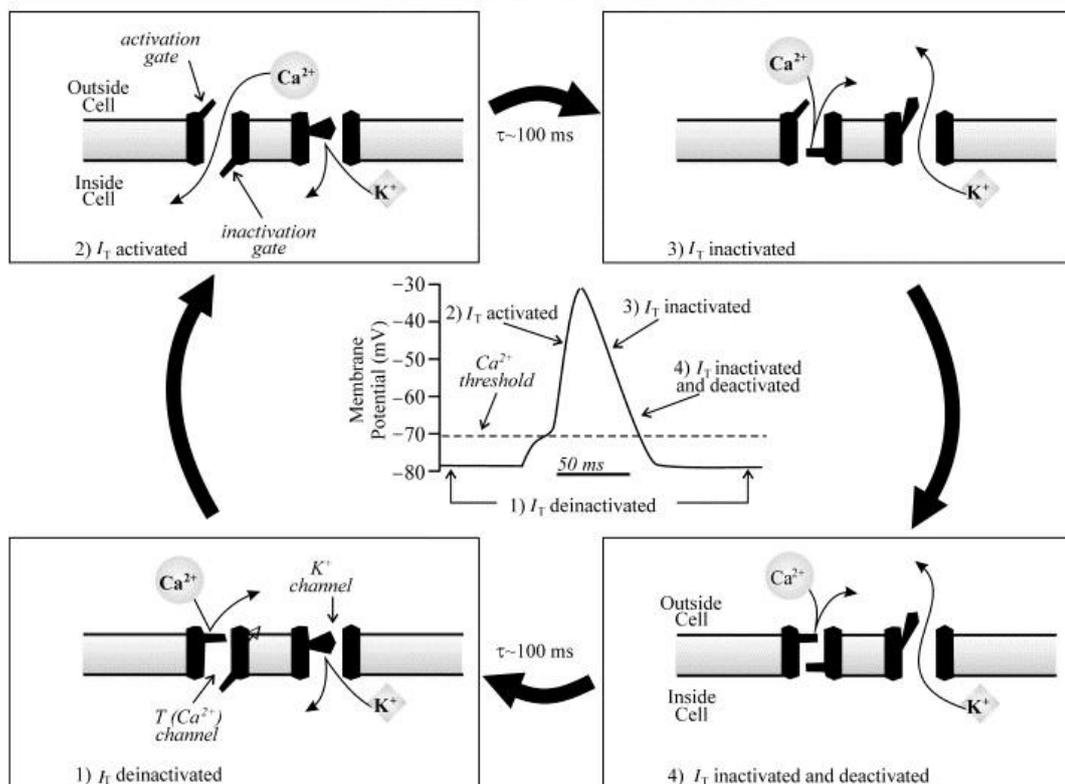


Fig. 2.9 Representación del mecanismo celular de generación de una espiga de calcio de bajo umbral. 1) Representación de canal T (canal de Ca^{2+}) cerrado, al igual que los canales de K^+ 2) Apertura del canal T por hiperpolarización de la membrana celular, durante al menos 50 ms y generación de la corriente I_T 3) Inactivación del canal T por despolarización de la membrana plasmática y apertura de los canales de K^+ para devolver el potencial de membrana a su valor en reposo 4) Canal T inactivado y cerrado. Potencial de membrana en reposo (Adaptado de Sherman & Guillery, 2006)

Para que los canales de calcio voltaje dependientes se de-inactiven y por tanto puedan ser funcionales, es precisa una hiperpolarización de la membrana de al menos 50 ms, permitiendo la entrada de iones calcio al interior celular, generando una espiga de calcio de bajo umbral, la cual, al contrario que los potenciales de acción de Na^+ y K^+ , es una espiga lenta, con una duración de entre

20 y 50ms (Coulter et al., 1989). La entrada de calcio provoca un estado de despolarización en la membrana de aproximadamente 20-30 mv, lo cual permite la apertura de los canales de Na⁺ y K⁺ voltaje dependientes, generándose una serie de potenciales de acción convencionales con una elevada frecuencia de disparo, característica de las ráfagas de bajo umbral. Al mismo tiempo, esta despolarización inactiva los canales T de Ca²⁺, provocando la repolarización de la membrana.

Por tanto, una ráfaga está constituida por una espiga de calcio de bajo umbral coronada por un tren de potenciales de acción clásicos. En base al mecanismo celular, los patrones temporales para determinar la presencia de una ráfaga, son un mínimo de dos espigas consecutivas, precedidas de un silencio de al menos 50 ms, y con un máximo de 6 ms entre espigas (ISI ó intervalo entre espigas, del inglés "*inter spike interval*") (Ramcharan et al., 1999; Gutierrez et al., 2001).

Estos criterios son definidos como "liberales" (Weyand et al., 2001), frente a aquellos más restrictivos, que se corresponderían con 100 ms de silencio previo y un máximo de 4 ms ISI (Lu et al., 1992; Lu et al., 1993; Guido et al., 1995; Guido & Weyand, 1995; Ramcharan et al., 2000). Sin embargo, varios trabajos (Ramcharan et al., 2000; Weyand et al., 2001) consideran el intervalo de 50 ms previo a la generación de la ráfaga como suficiente, al existir una estrecha y compleja relación entre el grado de hiperpolarización de la membrana y el tiempo necesario para permitir la generación de la corriente de calcio, de manera que para generarse la corriente I_T se ha de superar una tasa mínima de despolarización en función del tiempo (dV/dt) (Gutierrez et al., 2001).

La clasificación de las espigas en tónicas o ráfagas en registros extracelulares con los parámetros utilizados ("liberales"), supone la posible inclusión de espigas de alto umbral (Guido et al., 1992; Swadlow & Gusev, 2001; Rivadulla et al., 2003) o la posible pérdida de espigas en ráfaga al ser consideradas tónicas, al no poder observar directamente cambios en el potencial de membrana asociados a la corriente de calcio de bajo umbral (I_T). Aún así, estos posibles errores no modificarían cualitativamente los resultados, variando de forma no significativa los resultados cuantitativos.

De hecho, Lu y colaboradores (1992) determinaron mediante experimentos con registros intracelulares en el gato que, utilizando parámetros restrictivos para la detección de ráfagas de bajo umbral (100 ms de silencio previo), el 100% de las ráfagas de bajo umbral eran clasificadas como tales, mientras que tan sólo un 1,4% de las ráfagas de alto umbral (HT, del inglés *high threshold*) se incluían como ráfagas de bajo umbral. Aplicando los criterios "liberales" (50 ms de silencio previo), los resultados eran idénticos para las ráfagas de bajo umbral, detectándose el 100% de las mismas, mientras que se incluía un 1,9% de las HT como de bajo umbral.

En nuestros experimentos, salvando las diferencias cuantitativas, los resultados obtenidos en los análisis fueron semejantes independientemente de los criterios adoptados. Con los denominados parámetros liberales, los cuales fueron adoptados finalmente (un silencio previo de 50 ms, un mínimo de dos espigas consecutivas y un máximo de 6 ms de ISI) son consecuentes con los obtenidos en estudios previos realizados utilizando el mismo tipo de criterio (Ramcharan et al., 2000).

2.6.3 PROPIEDADES Y FUNCIONES DE LA RESPUESTA CELULAR TALÁMICA

En las células de relevo del NGL, se generan tanto ráfagas como espigas tónicas durante la actividad visual espontánea y en respuesta a un estímulo (Fig. 2.10), si bien, cuantitativamente hablando, la respuesta en ráfagas es inferior a la respuesta tónica (McCarley et al., 1983; Ramcharan et al., 2000; Swadlow & Gusev, 2001; Massaux & Edeline, 2003), aunque no por ello carece de importancia funcional. De hecho, numerosos estudios confirman la relevancia de ambos modos de respuesta en el procesamiento visual durante la vigilia (McCarley et al., 1983; Guido et al., 1992; Guido & Weyand, 1995; Nicolelis et al., 1995; Ramcharan et al., 1999, 2003; Sherman & Guillery, 2006).

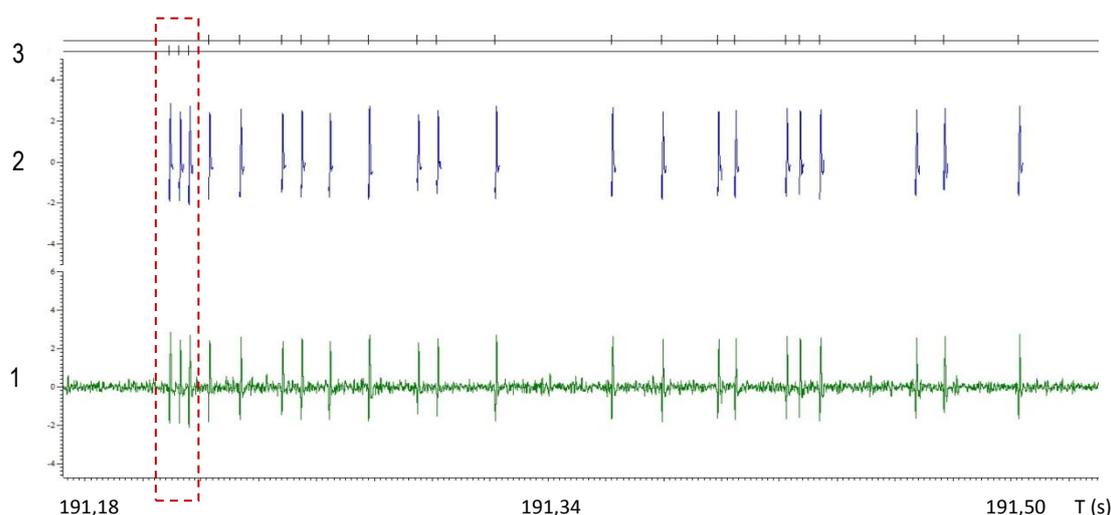


Fig. 2.10 Registro electrofisiológico unitario y extracelular de una célula de relevo talámica (parvocelular y ON) en mono despierto, mostrando un fragmento de la respuesta tras la aparición de un estímulo visual. De abajo a arriba: 1) Registro electrofisiológico crudo; 2) Canal representando únicamente las espigas (separadas del ruido); 3) Representación de canales de marcas temporales, tras la conversión de las espigas en tiempos. Canal de marcas temporales para las ráfagas y para el disparo tónico, respectivamente. Enmarcado en el recuadro rojo, se encuentran las 3 espigas que en este caso constituyen la ráfaga inicial que aparece tras la presentación del estímulo visual, seguida del disparo tónico.

La diferencia en la proporción de espigas de ambos tipos está relacionada con la función que cada modo de disparo desempeña en la transmisión de información a la corteza visual. Por sus características (las cuales explicaremos a continuación), se ha sugerido que las ráfagas de bajo umbral desempeñan un papel como detectoras de estímulos novedosos o de cambios en el campo visual, mientras que el disparo tónico sería el encargado de un procesamiento detallado de los distintos elementos de la imagen posteriormente a su aparición (Sherman & Guillery, 2006).

La primera diferencia que encontramos entre ambas respuestas es la distribución de las espigas ante un estímulo. Las ráfagas de bajo umbral aparecen inmediatamente después de la presentación del estímulo, desapareciendo a continuación (en una media de 100 ms), seguidas del disparo tónico el cual se mantiene durante toda la presencia de dicho estímulo. En la figura 2.10, se muestra un registro extracelular en el cual se observa la respuesta de una célula talámica ante un estímulo (figura geométrica). Se aprecia la generación de una ráfaga (en la figura en el recuadro rojo) seguida del consecuente disparo tónico que se mantiene durante un mayor período de tiempo (sólo se muestra parte del tiempo de respuesta tónica al estímulo).

Las ráfagas presentan una mejor relación señal-ruido durante la respuesta visual, considerándose como “señal” la respuesta a un estímulo y “ruido” la actividad espontánea. Durante ésta última, los niveles basales de ráfagas son muy inferiores al número de espigas tónicas (ver figura 2.11, C y D), por lo que, aunque ambas respuestas aumentan de forma pronunciada ante la aparición del estímulo, el ratio señal-ruido de las ráfagas se optimiza respecto al de las espigas tónicas (Guido et al., 1995).

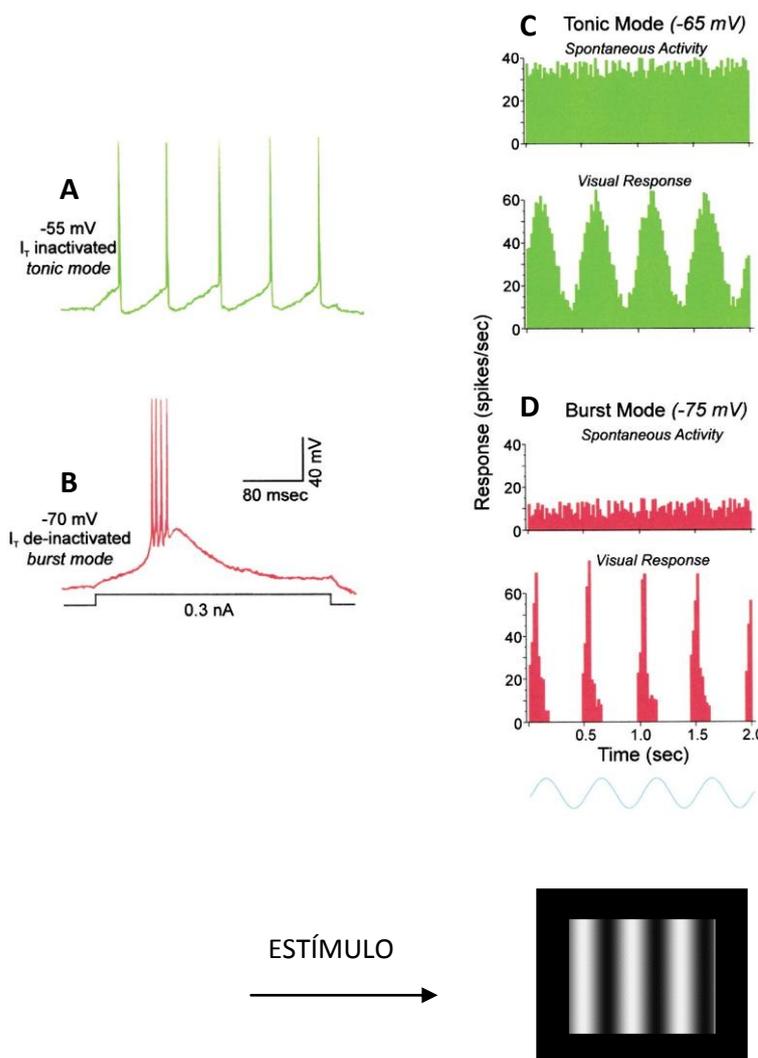


Fig. 2.11 (Adaptada de Sherman & Guillery, 2002)

A) Espigas tónicas

B) Ráfaga de bajo umbral: se observa la espiga de calcio coronada por una serie de espigas tradicionales.

C) Respuesta tónica basal o espontánea, seguida de una respuesta a un estímulo sinusoidal (enrejado mostrado en la parte inferior de la figura), donde se observa la modulación de la respuesta ante la frecuencia del enrejado.

D) Respuesta espontánea o basal en ráfagas. Debajo, respuesta de las ráfagas ante un estímulo sinusoidal (el mismo utilizado en C), mostrándose una respuesta transitoria ante la frecuencia del mismo.

Esta característica se ha interpretado como una mayor fiabilidad en la transmisión de información hacia la corteza, y por tanto en que una célula en “modo ráfaga” es más eficaz a la hora de detectar un estímulo. Ciertos estudios basados en la teoría de detección de señales, los cuales analizan la capacidad de una célula para detectar estímulos sobre un fondo “ruidoso”, corroboran esta hipótesis (Green & Swet, 1966; Macmillan & Creelman, 1991).

Una tercera característica que diferencia ambos modos de disparo neuronal, es la linealidad en la respuesta. Por linealidad, estrictamente hablando, y refiriéndonos a las propiedades de los campos receptores, se entiende que la respuesta a dos o más estímulos presentados de forma individual puede ser sumada de forma lineal, y la respuesta total será igual a la evocada por la presentación simultánea de esos dos o más estímulos (Sherman & Guillery, 2006). Normalmente, esta característica se analiza utilizando un enrejado sinusoidal, y analizando las respuestas mediante técnicas de Fourier (Guido et al., 1992, 1995). En la figura 2.11 (C y D), se observa la respuesta tónica y en ráfagas ante un enrejado de este tipo.

A medida que el estímulo cambia de contraste en el tiempo con un perfil sinusoidal, la respuesta celular debería ser también sinusoidal, tal y como ocurre con el modo tónico (Fig. 2.11C). Sin embargo, las ráfagas muestran una respuesta transitoria, no sinusoidal, lo cual está relacionado con el hecho de que, la respuesta en ráfaga, es semejante independientemente de la amplitud o duración del estímulo, siempre y cuando éste alcance el umbral de activación (Zhan et al., 1999).

También existen diferencias entre ambos modos de respuesta respecto a la sincronización temporal ante estímulos en movimiento. Experimentos llevados a cabo en el NGL del gato muestran que, ante la presencia de enrejados sinusoidales, el disparo tónico responde a las diferentes frecuencias temporales, tanto bajas, como medias y altas, presentando cada célula un óptimo de respuesta para una frecuencia determinada. En el caso de las ráfagas, existe una preferencia generalizada a ciertas frecuencias espaciales, alrededor de los 4 Hz, disminuyendo la respuesta por debajo y por encima de estos valores (Mukherjee & Kaplan, 1995). Esta preferencia por frecuencias temporales medias indica que las ráfagas responden mejor ante cambios repentinos de los estímulos presentes en el campo visual, y que por tanto, son peores detectoras cuando nos encontramos ante modificaciones graduales de las características de los mismos.

En vista de las diferentes características mostradas, las ráfagas se perfilan como óptimas detectoras de estímulos, debido a que presentan un ratio señal-ruido optimizado lo cual confiere máxima eficacia en la transmisión de información a la corteza, así como una respuesta máxima ante frecuencias de estimulación medias (4 Hz), respondiendo débilmente ante estímulos lentos o con cambios progresivos, y presentando una respuesta máxima inmediatamente después de la aparición del estímulo.

Las espigas tónicas, sin embargo, son las encargadas de un procesamiento posterior y detallado de la información, respondiendo de forma proporcional ante diversas frecuencias y respondiendo de forma lineal ante las características de los estímulos.

2.6.4 FUNCIÓN DEL CIRCUÍTO TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO EN EL PROCESAMIENTO VISUAL

La vía visual constituye un sistema de transmisión de información dinámico, en el cual el tálamo y la corteza interaccionan continuamente durante el procesamiento visual. La idea de que la transmisión de información se produce linealmente desde la retina al tálamo, y de éste a centros superiores siguiendo una escala jerárquica unidireccional, ha quedado obsoleta.

Una característica del sistema visual es la transmisión de información en vías paralelas desde la retina hasta el tálamo y de éste a la corteza. Las principales aferencias que recibe el NGL son las provenientes de la retina, en las cuales existe una segregación de la información en las vías parvocelular y magnocelular, constituidas por tipos celulares con características fisiológicas distintas, y que transmiten a la corteza señales visuales diferentes. Estudios recientes (Briggs & Usrey, 2009, 2011) determinan que esta segregación de la información no sólo se mantiene en la vía ascendente desde la retina al tálamo y de éste a la corteza, sino que las aferencias retrógradas desde V1 hacia el NGL, también mantienen una estratificación determinada.

Las aferencias talámicas en primates llegan a la capa 4 de la corteza visual primaria (Lund et al., 1975; Conley & Raczkowski, 1990; Fitzpatrick et al., 1994; Ichida & Casagrande, 2002), desde la cual parten conexiones retrógradas de nuevo hacia el NGL, y simultáneamente, se envían colaterales hacia capas superiores (capa VI) de la propia corteza visual. Este conjunto de aferencias y eferencias constituyen el circuito tálamo-córtico-talámico.

El número de las aferencias corticales sobre el NGL es superior al de las conexiones provenientes de la retina (Guillery, 1969; Erisir et al., 1997a, b), y, actualmente, se consideran de gran relevancia funcional, a pesar del bajo número de neuronas córtico-talámicas presentes en la capa 6 de la corteza (aproximadamente el 14% del total existente en macaco), y de que estas aferencias son moduladoras y no principales, como las aferencias retinianas (Fitzpatrick et al., 1994).

De hecho, numerosas características de las neuronas córtico-talámicas determinan que esta vía sea moduladora, como por ejemplo, la estructura de sus campos receptores. Éstos son muy diferentes a los existentes en el NGL, ya que, por ejemplo, son alargados y con preferencia respecto a la orientación y dirección, lo que sugiere una influencia sobre las células de proyección talámicas muy distinta a la que ejercen las conexiones retinianas, responsables de la estructura típica en centro-periferia (Sherman & Guillery, 2006). Otras características que confieren a la vía córtico-talámica una naturaleza moduladora es que activan receptores metabotrópicos (además de ionotrópicos), o el diámetro de sus axones, inferior al de las aferencias principales (Sherman & Guillery, 1998, 2004). Sin embargo, las conexiones corticales en el tálamo son robustas, y las neuronas talámicas reciben más aferencias a nivel individual desde V1 que desde la retina (Guillery, 1969; Erisir et al., 1997a, b).

Existen distintos efectos de la vía córtico-talámica sobre la actividad del NGL, los cuales se agrupan bajo dos tendencias principales: la modulación de los campos receptores celulares del NGL (Murphy & Sillito, 1987; Jones et al., 2000; Rivadulla et al., 2002; Allito & Usrey, 2008) o la optimización de la transmisión de información visual desde el NGL hacia la corteza (revisado por Briggs & Usrey, 2008). En ambos casos, una característica fundamental de V1 para llevar a cabo la modulación de la actividad talámica es la organización retinotópica de la información sensorial.

De esta manera, células contiguas en la retina, reciben información de puntos adyacentes y envían la información a células talámicas también contiguas. Tanto el NGL como la corteza visual organizan las señales recibidas formando mapas topográficos con una clara organización espacial. (Cudeiro & Rivadulla, 2002). La importancia de la organización retinotópica de la corteza visual está relacionada con el término “selección egocéntrica”, el cual surge a raíz de ciertos estudios llevados a cabo en el sistema auditivo (Suga & Ma, 2003; Wu & Yan, 2007; Zhang & Yan, 2008) o somatosensorial (Krupa et al., 1999; Ghazanfar et al., 2001; Temereanca & Simons, 2004; Li & Ebner, 2007), y que posteriormente se extendieron al sistema visual, confirmando observaciones anteriores (Murphy & Sillito, 1987; Jones et al., 2000; Rivadulla et al., 2002; Webb et al., 2002; Nolt et al., 2007). Estos estudios (aplicados concretamente a la vía visual) determinaron que las aferencias corticales hacia el NGL refinan la estructura del campo receptor de las neuronas talámicas a las que proyectan, aumentando la actividad de aquellas que muestren las características preferidas de su entrada cortical, y disminuyendo la actividad de las no óptimas (Zhang & Suga, 2000).

Las restantes teorías postulan que la vía córtico-talámica optimiza la fiabilidad de la transmisión de información visual desde el NGL, al aumentar la intensidad (Briggs & Usrey, 2008) y precisión de la respuesta de las mismas a estímulos visuales (McClurkin et al., 1994; Funke et al., 1996; Sillito & Jones, 2002; Andolina et al., 2007; de Labra et al., 2007).

Otro importante efecto de las aferencias córticofugales es la de promover cambios en el patrón de respuesta de las neuronas de proyección talámicas. Ya en 2001, Wang y colaboradores realizaron una serie de experimentos demostrando que la supresión de la vía córtico talámica mediante un antagonista del receptor de GABA_B aplicado por iontoforesis sobre las neuronas de capa 6 de la corteza, y por lo tanto afectando a un área muy restringida, generaba un cambio de respuesta celular en el NGL, indicando un control o modulación cortical sobre la respuesta talámica. Estudios posteriores determinan la capacidad de la vía córtico-talámica para cambiar el tipo de respuesta en el NGL. Si bien los mecanismos subyacentes a este efecto son bastante complejos, éstos dependen de la activación de receptores metabotrópicos e ionotrópicos en las sinápsis de las células de relevo talámicas, así como en interneuronas inhibitorias.

La corteza, además, establece contactos sinápticos con interneuronas del propio NGL y del núcleo perigeniculado, con diversos y complejos efectos excitatorios e inhibitorios (Landisman & Connors, 2007; Cruikshank et al., 2010; Lam & Sherman, 2010). Es preciso indicar que, a su vez, V1 recibe eferencias provenientes de otras áreas corticales, como puede ser el área MT (Sillito et al., 2006), las cuales podrían estar afectando a la actividad talámica a través de la vía córtico-talámica, y que deben tenerse en cuenta.

Por otro lado, se ha determinado que la intensidad de respuesta en el NGL aumenta ante la atención directa hacia un estímulo, existiendo evidencias de la importancia de la misma en las

respuestas visuales del tálamo, tanto en humanos como en primates (O'Connor et al., 2002; McAlonan et al., 2008). La influencia atencional en V1 ha sido ampliamente estudiada y documentada (Motter, 1993; Luck et al., 1997; Watanabe et al., 1998; Brefczynski & DeYoe, 1999; Ito & Gilbert, 1999; Somers et al., 1999; Ress et al., 2000; Marcus & Van Essen, 2002; McAdams & Reid, 2005; Chen et al., 2008), por lo que podría producirse un aumento de la respuesta talámica como consecuencia de un efecto atencional, a través de la modulación ejercida por la vía córtico-talámica.

Por tanto, la estrecha relación entre la actividad cortical y talámica es patente, formando complejas interacciones con otras áreas corticales más alejadas, vías moduladoras al propio NGL y al Núcleo Reticular Talámico, lo que constituye, en definitiva, el bucle tálamo-córtico-talámico. Ambas estructuras, corteza y NGL, participan de forma activa en el procesamiento de información visual, siendo el punto crucial del debate el grado en que la corteza controla la transmisión de información desde el NGL (Steriade et al., 1993a, b; Sherman, 2001).

2.7 ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL (EMT)

2.7.1 INTRODUCCIÓN

En 1980, Merton y Morton desarrollaron una técnica capaz de estimular áreas motoras del córtex cerebral a través del cráneo intacto aplicando una corriente eléctrica de elevada intensidad. A esta técnica capaz de generar una respuesta muscular a partir de un pulso de corriente la denominaron Estimulación Eléctrica Transcraneal (EET). Se abrió entonces un inmenso abanico de posibles aplicaciones de dicha técnica en estudios neurofisiológicos y neuropatológicos, pero la EET presentaba un importante problema: era una técnica cuya aplicación resultaba dolorosa.

En 1985, Barker demostró que la generación de un campo magnético permitía la inducción de una corriente eléctrica de características semejantes a la generada por la estimulación eléctrica, con la ventaja de resultar prácticamente indolora. Surgió así a mediados de los años 80 la técnica conocida como Estimulación Magnética Transcraneal (EMT).

La EMT es una técnica no invasiva ni dolorosa basada en el principio de inducción electromagnética, que aplicado al sistema nervioso, explica el hecho de que un pulso de corriente, con intensidad y duración suficientes, que atraviesa una bobina situada sobre el cráneo, induce un campo magnético que puede modificar brevemente la actividad neuronal en el área de la corteza cerebral sobre la cual se aplique, al generar una despolarización de la membrana celular por inducción de una corriente iónica (Barker, 1985).

Los primeros estudios aplicados en los cuales se utilizó la EMT se desarrollaron en corteza motora, donde los efectos eran fácilmente observables, estudiando las propiedades excitadoras de la aplicación de EMT sobre el sistema motor (Baker, 1985). Posteriormente, la EMT se ha utilizado en numerosos campos de la Neurociencia, entre los que se encuentra el estudio del sistema visual, objeto del presente trabajo.

2.7.2 APLICACIONES DE LA EMT EN EL ESTUDIO DEL SISTEMA VISUAL

Los avances y aplicaciones de la EMT al estudio del sistema visual no han dejado de desarrollarse durante el último siglo. La EMT aplicada a la corteza occipital puede promover múltiples alteraciones en la vía visual, como la generación de fosfenos, descubiertos por d'Arsonval (1896) al aplicar un campo magnético sobre el sistema nervioso.

Los fosfenos son destellos luminosos originados por la estimulación del córtex occipital, y por tanto producidos sin estimulación luminosa de la retina, que se extienden desde la posición de la fovea hasta uno de los hemicampos visuales (Merabet et al., 2003).

Otro de los efectos de la aplicación de EMT sobre el sistema visual es la generación de *escotomas*. El escotoma es una zona de ceguera parcial generada al aplicar EMT a la frecuencia e intensidad apropiada en la corteza occipital. En 1989, Amassian y colaboradores realizaron unos experimentos de gran importancia para la aplicación de EMT en el sistema visual, basándose precisamente en este fenómeno. El experimento consistía en que un grupo de sujetos identificase una serie de letras que aparecían de forma aleatoria en una pantalla, aplicando tras la aparición del estímulo pulsos de EMT a frecuencias subumbrales. Los resultados del experimento demostraron que, si el pulso era aplicado en un intervalo de tiempo menor a 40-60 ms ó mayor de 120-140 ms tras la aparición del estímulo, la EMT no afectaba a la resolución de la tarea. Sin embargo, si el pulso era aplicado entre los 60 y los 120 ms posteriores a la aparición del estímulo, los sujetos eran incapaces de determinar qué letra les mostraban (Amassian et al., 1989). Estudios posteriores (Corthout et al., 1999b) determinaron un tercer intervalo temporal en el cual existía supresión en la transmisión del estímulo visual, por debajo de 30 ms, coincidente con la llegada de información visual a la corteza.

Otros estudios revelan la importancia de las aferencias retrógradas en el sistema visual, como el estudio llevado a cabo en el área MT/V5, donde la aplicación de TMS genera la aparición de un fosfeno, el cual puede ser eliminado si en un intervalo de 5 a 45 ms se aplica un pulso electromagnético sobre V1 (Pascual-Leone & Walsh, 2001).

Numerosos y variados experimentos muestran las enormes posibilidades que la aplicación de esta técnica tiene para el estudio de la actividad nerviosa. En función de los parámetros elegidos para la estimulación, el efecto de la EMT sobre el sistema visual puede ser excitador o inhibitor.

2.7.3 FACTORES DETERMINANTES EN LA APLICACIÓN DE EMT

La EMT se puede utilizar tanto para estimular como para inhibir la actividad neuronal de los sistemas motores y sensoriales. Las variables más importantes a tener en cuenta en el momento de aplicar EMT son cuatro: Intensidad del campo magnético generado, frecuencia de estimulación, el tiempo de aplicación y la forma y disposición de la bobina utilizada durante la estimulación (Chen et al., 1997; Pascual-Leone et al., 1998; Touge et al., 2001).

A. FRECUENCIA

En base a la frecuencia de estimulación, existen diferentes protocolos de aplicación de la EMT. Así, diferenciamos la estimulación simple (EMT), la estimulación repetitiva (EMTr) y la estimulación por pulsos pareados (EMTpp). Como su propio nombre indica, en la EMT simple, se aplica un único pulso a baja frecuencia (frecuencia inferior a 1 Hz), utilizándose, a menudo, en estudios del sistema nervioso periférico (Barker, 2002).

La EMT por pulsos pareados se basa en la emisión de dos pulsos consecutivos, de manera que variando el tiempo entre sendos pulsos y la intensidad de los mismos, podemos obtener un efecto inhibitor o excitador (Kujirai et al., 1993).

La EMTr, protocolo utilizado en el presente trabajo, consiste en la aplicación de trenes de estímulos sobre la corteza, a altas o bajas frecuencias durante períodos de tiempo breves (que oscilan normalmente entre 3 y 15 minutos en función de la intensidad de corriente), y que generan un efecto transitorio sobre la actividad neuronal del área estimulada de duración variable. La EMTr puede generar un efecto excitador o inhibitor sobre la actividad neuronal en función de la frecuencia de estimulación utilizada. El límite entre inhibición-excitación se establece en valores de frecuencia de 5 Hz, generándose un efecto inhibitorio a frecuencias inferiores a este valor, y excitador a frecuencias superiores (Pascual-Leone et al., 1994; Chen et al., 1997; Berardelli et al., 1998; Maeda et al., 2000a, b; Muellbacher et al., 2000).

B. INTENSIDAD DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA

Otro factor importante a tener en cuenta es la intensidad a la cual se produce la estimulación magnética sobre el área cortical. Utilizando los datos proporcionados por el fabricante del estimulador (<http://www.magstim.co.uk>), y basándonos en estudios previos llevados a cabo con protocolos semejantes (Chen et al., 1997; Kosslyn et al., 1999), calculamos que el campo magnético generado fue de 1,5 T.

C. LUGAR DE ESTIMULACIÓN

La bobina se situó apoyada sobre el cuero cabelludo del animal, coincidiendo con el área dónde se encuentra la corteza occipital, haciendo coincidir el punto de intersección de los dos elementos de la bobina en forma de ocho con el punto central de la corteza visual en ese hemisferio.

Durante las primeras sesiones, se realizaron varios registros de prueba para comprobar la correcta ubicación de la bobina, determinando dónde se producía el máximo efecto sobre la actividad observada en el NGL y marcando dicha posición para posteriores sesiones de experimentación.

La bobina se mantuvo con un ángulo de 45° de inclinación gracias al soporte de un brazo articulado, el cual la sostenía inmóvil durante las sesiones de estimulación y registro (Fig. 2.12).

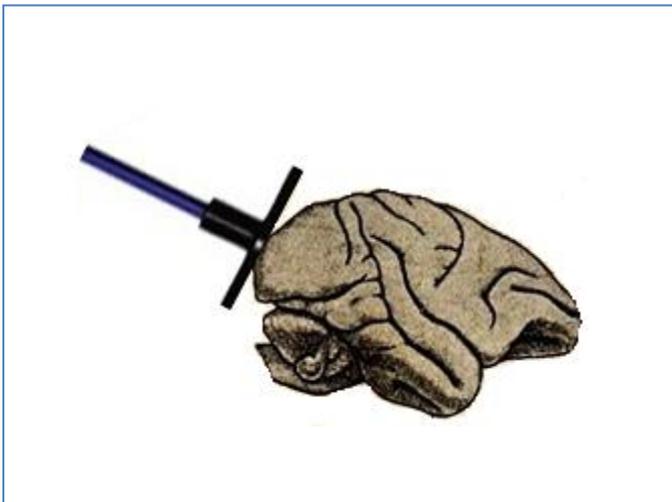


Fig. 2.12 Esquema de la bobina sobre la corteza occipital del primate (*Macaca mulatta*)

D. TIPO DE BOBINA ELECTROMAGNÉTICA

Para la aplicación de EMT, se emplea una bobina electromagnética, la cual es una espiral de cobre recubierta de un material aislante, que se apoya en la cabeza del primate coincidiendo con la zona ocupada por la corteza occipital. Un pulso eléctrico aplicado a la bobina generará un campo magnético orientado en un plano perpendicular a la misma que, a su vez, inducirá un campo eléctrico sobre la corteza cerebral capaz de modificará la actividad celular del área en cuestión (Fig. 2.13).

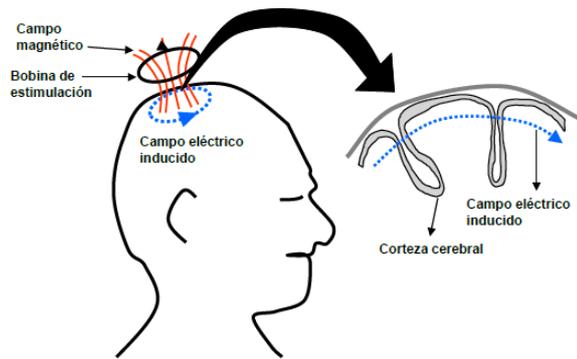


Fig. 2.13 Representación del campo magnético generado por la bobina de estimulación, así como del consiguiente campo eléctrico generado (perpendicular al primero).

Existen diferentes formas de bobinas que generan campos magnéticos de intensidades y formas distintas (Fig. 2.14). Principalmente, para los estudios con EMT, se utilizan 2 tipos de bobinas: redondas y en forma de ocho. Elegimos el modelo en ocho (Fig. 2.14C), el cual está compuesto por dos espirales de 25 mm cada una, debido a que permite focalizar el máximo de intensidad de la corriente eléctrica en un punto concreto: la intersección entre los dos componentes de la bobina. Esta bobina es de pequeño tamaño para obtener un campo magnético, y por tanto eléctrico, de mayor magnitud, y para poder estimular áreas más profundas de la corteza, realizando un mejor ajuste de la misma sobre la corteza occipital del primate.

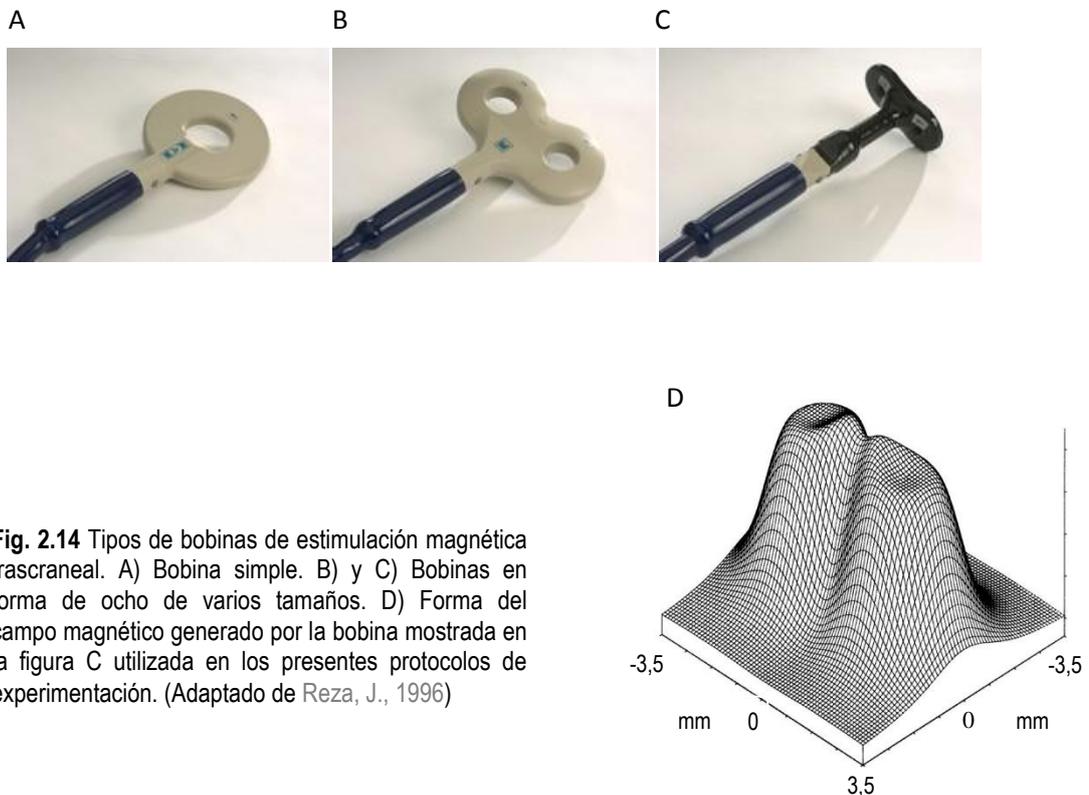


Fig. 2.14 Tipos de bobinas de estimulación magnética transcraneal. A) Bobina simple. B) y C) Bobinas en forma de ocho de varios tamaños. D) Forma del campo magnético generado por la bobina mostrada en la figura C utilizada en los presentes protocolos de experimentación. (Adaptado de Reza, J., 1996)

3. OBJETIVOS

Según se planteó en la introducción, el papel del tálamo, y más concretamente del NGL, así como la participación de las ráfagas en el procesamiento activo de la información visual, sigue siendo un tema abierto a estudio y debate. Con el presente trabajo, se pretende esclarecer la implicación de esta estructura en el filtrado o primer análisis de la información visual previamente a su llegada a la corteza, determinando el papel de los distintos tipos de respuesta neuronal en dicho procesamiento, partiendo de la hipótesis de que las ráfagas pueden tener una función en la detección de estímulos y las espigas tónicas en la codificación de las propiedades de los mismos.

Por este motivo, se plantean los siguientes objetivos:

- Caracterización de los distintos patrones de disparo de las células talámicas (NGL) en animales despiertos (*Macaca mulatta*)
- Estudiar el papel que los distintos componentes de la respuesta (tónico y ráfagas) desempeñan en la transmisión de información sensorial hacia la corteza en una tarea de discriminación visual
- Determinar un posible efecto de la novedad del estímulo visual en las respuestas, en ráfagas y tónicas, de las células talámicas

Dado que se considera que ciertos procesos como la atención, la detección o la novedad de los estímulos tienen su base neuronal en la corteza cerebral, nos planteamos utilizar EMT (Estimulación magnética transcraneal) in vivo para bloquear la salida cortical y así determinar la influencia de las aferencias córtico-talámicas sobre los distintos patrones de disparo neuronal existentes en el NGL, tanto en lo referente a las espigas tónicas como a las ráfagas de bajo umbral, existiendo un último objetivo:

- Observar si el bloqueo cortical modifica los patrones de disparo observados durante la tarea de discriminación visual, y si estas alteraciones tienen efectos sobre el comportamiento en la resolución de dicha tarea.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 ASPECTOS GENERALES

Todos los experimentos se realizaron en dos primates adultos (*Macaca mulatta*), siguiendo la normativa de la Sociedad Española de Fisiología, del International Council for Laboratory Animal Science, así como de la Unión Europea (Estatuto nº 86/809). Los procedimientos experimentales fueron aprobados por los Comités Éticos de la Universidad de A Coruña y del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC).

Los animales fueron comprados a la compañía R.C. Hartelust BV. (Holanda), y transportados hasta el animalario de la Unidad de Cirugía Experimental del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña. El personal veterinario y técnico especializado en el manejo de animales de experimentación se encargó de la supervisión del bienestar de los mismos. Se alojó a los primates en jaulas diseñadas especialmente para esta especie de macacos, las cuales constan de un sistema de bebida automático, que es revisado cada día. La alimentación consistió en una dieta estándar para primates (*Harlan*) suplementada con fruta, verdura, pasta y frutos secos. La sala se mantuvo a una temperatura entre 20°C y 26°C, con una humedad relativa entre 45% y 70%, contando con 15 renovaciones por hora del aire ambiente. El ciclo de luz/oscuridad se mantuvo en periodos de 12 horas.

4.2 ADAPTACIÓN

Previamente a su entrenamiento para la realización de las tareas visuales propias del protocolo de experimentación, los animales pasaron un período de adaptación al nuevo entorno de 40 días. Trascurridos dos días desde la llegada de los animales al centro, período establecido para la regulación de ciertas funciones fisiológicas, se les practicaron diversas pruebas veterinarias rutinarias para comprobar su correcto estado de salud.

Durante el período de acondicionamiento/cuarentena, se alojó a los animales en instalaciones separadas de los restantes animales para evitar una posible contaminación cruzada (Frost & Hamm Jr., 1990).

4.3 ENTRENAMIENTO

Una vez transcurrido el tiempo de cuarentena y adaptación, se procedió al entrenamiento comportamental del animal, siempre bajo la supervisión de equipo veterinario especializado. Los primates trabajaban 5 días por semana, de lunes a viernes, durante los cuales estaban privados de líquidos, que debían obtener mediante la correcta realización de la tarea en cada sesión de experimentación. Durante el fin de semana, tenían libre acceso al agua. En caso de no haber obtenido el mínimo aporte hídrico diario necesario durante la sesión de trabajo (estimado por los veterinarios del centro en función de las características de los primates en aproximadamente 30 ml/kg), se le aportaba la cantidad restante hasta alcanzar dicho mínimo al finalizar cada sesión. No se realizaron modificaciones en la dieta sólida en ningún momento.

La primera parte del entrenamiento consistió en enseñar al animal a subirse a la silla para primates (Crist Instruments CA, modelo 1-CCT-21A) en la cual permanecía durante la realización de los experimentos. Se realizaron adaptaciones en la misma, de manera que se modificó la parte posterior para convertirla en una trampilla deslizante que permitía al animal introducirse directamente desde su jaula a la silla, evitando estresar al animal, como ocurre al utilizar otros procedimientos como las barras y collares, que resultan además de mayor riesgo para el investigador.

Una vez superada esta parte del entrenamiento, y cuando el primate estaba ya acostumbrado a permanecer en el laboratorio, se realizó la primera cirugía, en la cual se implantó el poste de fijación, que permitía la inmovilización de la cabeza del animal durante los experimentos.

4.4 CIRUGÍAS

4.4.1 ASPECTOS GENERALES

Para posibilitar la realización de los registros electrofisiológicos, a los animales se les practicaban dos cirugías consecutivas, con un período intermedio de dos meses entre una y otra para permitir la recuperación completa del animal entre ambas.

En primer lugar, se implantó un poste de fijación de titanio (Crist Instruments, ref. 6-HP-X6) sobre la superficie del cráneo para inmovilizar la cabeza del macaco mediante una mordaza (Crist Instruments, modelo 6-FHC-S2CD) durante las sesiones de experimentación, y posteriormente se realizó una segunda cirugía para implantar la cámara de registro (Crist Instruments, ref. 6-IAC-S) localizada estereotáxicamente sobre el NGL, a través de la cual y con la ayuda de un micromanipulador (Narishige Oil hydraulic micromanipulator, modelo MO-97), se introdujeron los electrodos de tungsteno para realizar los registros. Antes de iniciar la intervención, se realizaron controles hematológicos y bioquímicos, así como una exploración general del estado del animal.

4.4.2 LOCALIZACIÓN DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL

Para conocer la localización exacta del NGL del primate, previamente a las intervenciones quirúrgicas, se le practicó al animal una resonancia magnética que permitía una aproximación a la ubicación de la estructura, ya que, a pesar del uso de atlas estereotáxicos (Snider, 1998,) existe siempre una variabilidad en la posición de ésta, debido al peso, tamaño y a las características estructurales propias del animal.

En base a los resultados de la resonancia y a los datos de los atlas estereotáxicos consultados (Fig. 4.1 y Fig. 4.2), así como de posteriores datos experimentales obtenidos durante la investigación, se determinó la posición del NGL en 9,5 mm lateral desde la línea media y 5,5 mm posterior desde bregma para el mono 1, y en 11 mm desde la línea media y 6 mm posterior a bregma para el mono 2. Las cámaras de registro se colocaron de manera que el punto central de las mismas coincidiera con las coordenadas indicadas, para que la totalidad del NGL esté incluido en el diámetro interno de la cámara de registro.

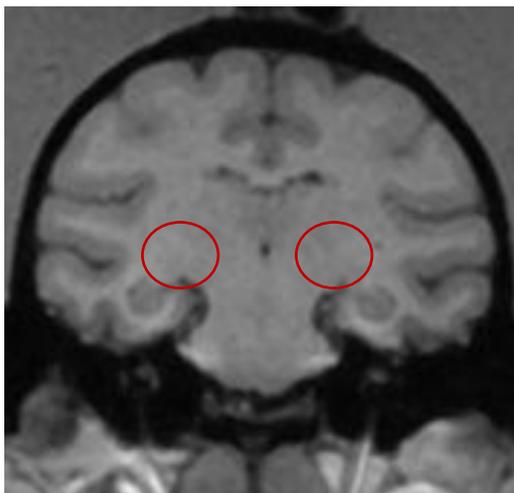


Fig. 4.1 Imagen obtenida mediante resonancia magnética (IRM). Corte coronal en un encéfalo de primate adulto (*Macaca mulatta*). Los círculos rojos marcan la posición estimada del NGL.

Resolución: 300 $\mu\text{m}/\text{pixel}$

Sección 77/107

Grosos de la sección: 400 μm

Número de secciones: 150

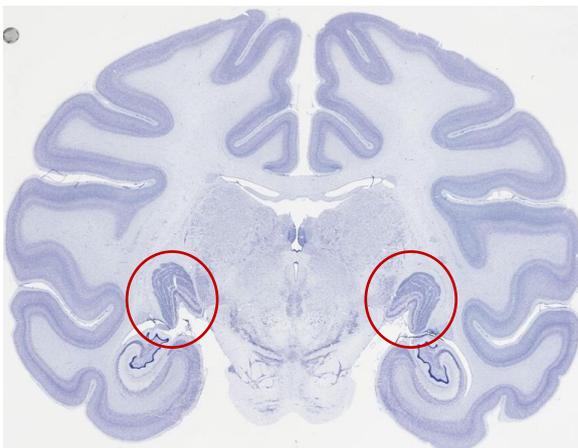


Fig. 4.2 Imagen de un corte coronal de encéfalo de primate adulto (*Macaca mulatta*) obtenida tras una tinción Nissl. Detalle de la localización de ambos NGLs, en la figura indicados con un círculo rojo.

Fuente: Edward (Ted) Jones/brainmaps.org/mcs-b-nissl. 24/10/2006.

Resolución: 0.46 $\mu\text{m}/\text{pixel}$

Sección 27/32

Grosos de la sección: 30 μm

Número de secciones: 32

4.4.3 PREOPERATORIO INMEDIATO: ASPECTOS GENERALES

Se inició la preparación para la cirugía con un periodo de ayuno de 12 horas previas al momento de la intervención, en las cuales el animal tenía libre acceso de agua. La jornada previa a la cirugía, se pesó al animal para calcular con exactitud las dosis de anestesia necesarias. Llegado el momento de la intervención, se anestesió al animal en su jaula con medetomidina (0.03-0.05 mg/kg) y ketamina (5-7 mg/kg) via intramuscular, mezclados en la misma jeringa. Una vez anestesiado, el primate se traslado a quirófano, donde se realizó el preoperatorio inmediato.

En primer lugar, se preparó la zona quirúrgica, lavándola y a continuación, rasurándola. Se colocó al animal en la mesa de operaciones, sobre una manta eléctrica para mantener la temperatura corporal constante durante la intervención, empleando un termómetro rectal para comprobar que dicha temperatura se mantenía dentro de los valores normales durante la cirugía. Se cateterizó la vena cefálica de uno de los brazos y se colocó un pulsioxímetro en uno de los dedos para comprobar la saturación de oxígeno en sangre y el pulso del primate.

Se realizó la intubación endotraqueal, para la cual se administró un relajante muscular (atracurio 0,3-0,5 mg/kg iv), utilizando traqueotubos del número 3-4 con neumotaponamiento. La anestesia durante la cirugía se mantuvo con sevoforane (2,5-3,3 %), oxígeno, y ventilación mecánica a presión positiva (VT 12 ml/kg, 12-15 rpm). Durante el procedimiento quirúrgico, se mantuvo una perfusión continua de remifentanilo (0.25 ugr/Kg/min) como analgésico, siendo sustituido al final de la intervención por buprenorfina s.c., la cual se administró durante tres días, en ciclos de 12 horas. La profilaxis antibiótica se realizó con cefotaxima cada 24 horas los tres primeros días tras la cirugía.

Para la intervención, se colocó al animal en un soporte estereotáxico para monos (Kopft, Frame Asembly, model 1430), y se aplicó lidocaína en las zonas de contacto (orejas y órbita ocular) para evitar cualquier daño o molestia posterior que se pudiese producir. Se tapó al animal dejando al descubierto el área en la cual se iba a practicar la intervención.

4.4.4 CIRUGÍA DE IMPLANTE DEL POSTE DE FIJACIÓN

Se inició la cirugía retirando el tejido epitelial y conjuntivo situado sobre el cráneo con un bisturí cauterizador, dejando el tejido óseo expuesto. Se marcó el lugar que ocuparía el poste de fijación (Fig. 4.3), que se situaba justo por delante de bregma, sobre la línea medial del cráneo, y se procedió a atornillar al cráneo del animal una serie de placas y tornillos de titanio de diferentes longitudes y formas (de 3,5 a 6 mm con un diámetro de 2 mm en el caso de los tornillos y de 15 a 25 mm de longitud para las placas, siendo éstas rectas o en Y), cuya finalidad era generar puntos de agarre para que el cemento dental se adhiriese con mayor eficacia al tejido óseo formando una estructura de soporte del poste de fijación estable y eficaz.

La colocación de las placas y tornillos se realizó respetando el espacio que debía quedar libre para implantar, además del poste de fijación, las cámaras de registro sobre los NGL.

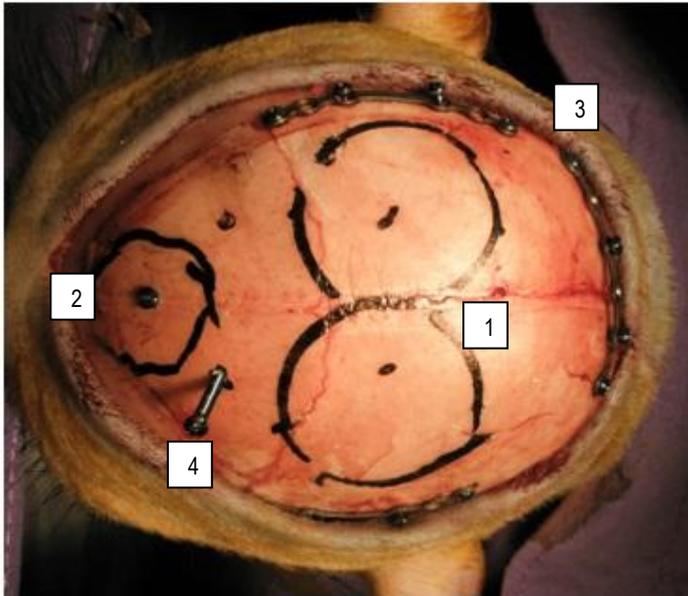


Fig. 4.3 Fotografía de la colocación de las placas y tornillos en el cráneo del primate. Sobre el cráneo, se dibujaban las posiciones que ocuparían las cámaras de registro (1), colocadas estereotáxicamente sobre ambos NGLs, y la posición en la cual se situaría el poste de fijación (2). Las placas y tornillos poseen diversas formas y longitudes, buscando la máxima adaptabilidad al cráneo del primate (3). El tornillo de mayor longitud (4), sobresalía del implante una vez puesto el cemento y se usaría como toma de tierra.

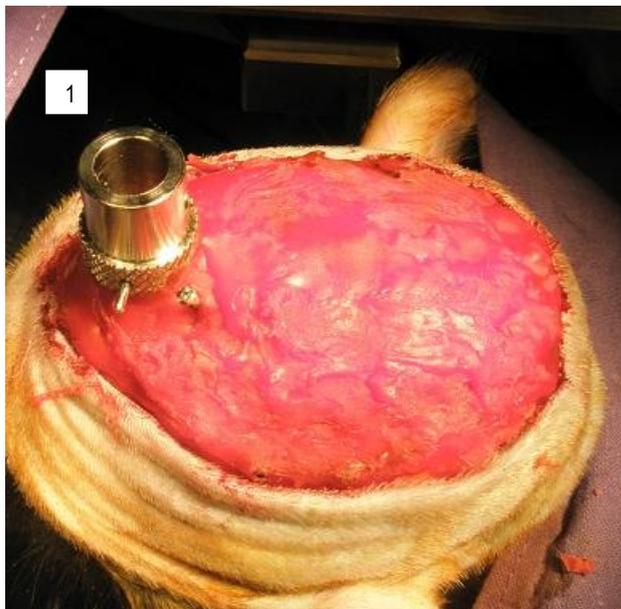


Fig. 4.4 Fotografía del implante mostrando el poste de fijación y el cemento dental que ancla éste al cráneo del primate, previamente a la realización de la segunda cirugía en la cual se implanta la cámara de registro, levantando el fragmento situado sobre uno de los dos NGLs.

- (1) Poste de fijación de titanio, Crist Instruments.

Una vez colocados los tornillos, se colocó el poste de fijación, y se aplicó entonces el cemento dental (Durabay reliance) en finas capas cubriendo toda la superficie ósea, hasta que los tornillos quedaban completamente embebidos en el cemento y el cráneo poseía un armazón de gran consistencia rodeando el poste de fijación (Fig. 4.4).

Se suturó el tejido conjuntivo y epitelial, cubriendo, en la medida de lo posible, la estructura de cemento dental. Se desentubó al animal dejándolo en quirófano hasta que despertaba y mostraba signos de actividad normal. En ese momento, se trasladó al primate al animalario donde se mantenía en observación hasta la recuperación completa sus funciones.

Trascurrido un mes desde esta primera cirugía, y una vez comprobado que no existía rechazo del implante por parte del tejido óseo, y que el animal estuviese adaptado al mismo, se entrenó al animal para realizar la fijación visual (*ver apartado 4.5.3 y siguientes*). Una vez alcanzados los objetivos de la fijación (2 segundos de fijación en una ventana de 0,2°), se realizó la segunda cirugía.

4.4.5 CIRUGÍA DE IMPLANTE DE LA CÁMARA DE REGISTRO

Al igual que en la cirugía anterior, se realizó el preoperatorio inmediato (*ver apartado 4.4.3*) y una vez que el primate estaba listo para ser intervenido, se limpió y desinfectó el implante de cemento. Se estableció la posición de la cámara de registro mediante medidas estereotáxicas sobre uno de los NGL del animal y con ayuda de un motor eléctrico (Micromotor Nawfram, modelo 5751) y una broca de proporciones adecuadas, se eliminó el cemento de un círculo de radio de aproximadamente un 1 cm desde el punto marcado como el centro del NGL, de manera que el diámetro de la craneotomía coincidiese con el diámetro interno de la cámara de registro (1,9 cm). La parte final de la craneotomía se realizó con un perforador manual para evitar lesiones en el tejido (Fig. 4.5)

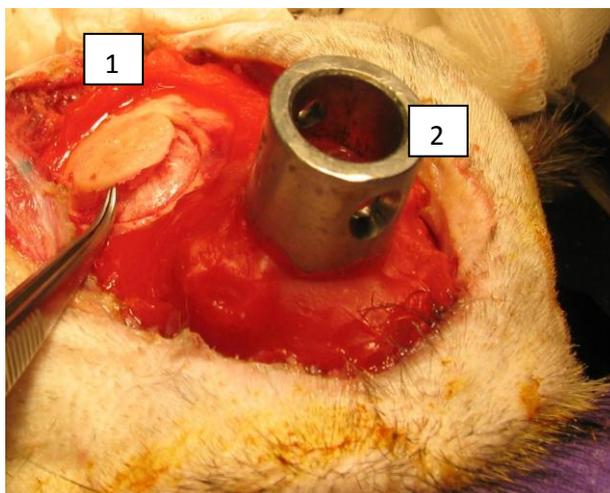


Fig. 4.5 Craneotomía sobre uno de los NGLs (1). Se muestra el momento en el cual se elimina el fragmento de hueso tras practicar la craneotomía, dejando expuesta la meninge.

(2) Poste de fijación de titanio (Crist Instruments)

Cuando se retiró el fragmento de cráneo, se colocó la cámara de registro encajada en la craneotomía y se fijó al mismo con finas capas de cemento dental que se aplicaron a su alrededor, teniendo especial cuidado de que el cemento no contactase con la meninge ni invadiese la craneotomía.

Cuando la cámara estuvo correctamente fijada en el implante y el cemento se secó (Fig. 4.6), anclándola firmemente a éste, se aplicó una crema antibiótica (Gentamicina Cusí 0,6% alternando cada dos semanas con Terra Cortril-Farmaciera para evitar una posible resistencia antibiótica) y se cerró la cámara procediendo a despertar al animal y transportarlo al animalario, donde se le vigiló hasta que su motilidad y reflejos fueron de nuevo normales.

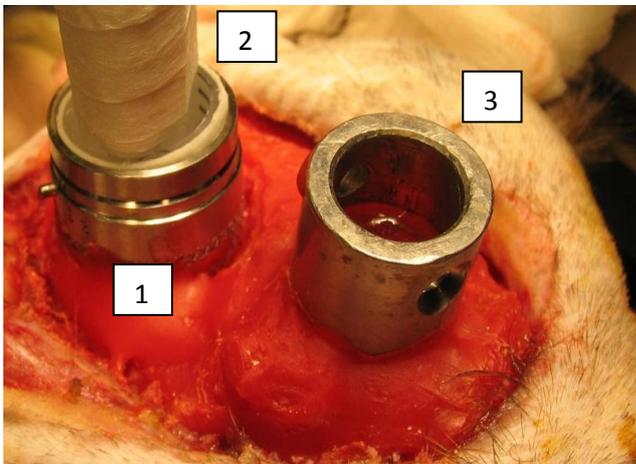


Fig. 4.6 Cámara de registro (1) (Crist Instruments) situada sobre la craneotomía practicada sobre uno de los NGLs del primate. La cámara queda perfectamente colocada sobre la craneotomía, y embebida en el cemento dental. Mientras se aplica el cemento dental, y éste se seca anclando la cámara al implante, la cámara se sujeta en su posición exacta estereotáxicamente mediante un soporte (2).

(3) Poste de fijación de titanio (Crist Instruments)

4.5 MONTAJE DEL LABORATORIO Y EQUIPO DE EXPERIMENTACIÓN

4.5.1 ASPECTOS GENERALES

El laboratorio donde se realizaron los experimentos consta de dos salas independientes y contiguas. En la primera, se encontraba el investigador con los equipos necesarios para controlar los experimentos y realizar los registros, y la segunda es en la que trabajaba el primate (Fig. 4.7). Esta segunda sala estaba insonorizada, y dotada de un sistema de aire acondicionado independiente, así como una fuente de luz debidamente blindada para evitar ruido eléctrico que interfiriese los registros electrofisiológicos.

La silla del mono tenía un sistema de fijación al suelo para evitar que los movimientos del animal en la misma pudiesen interferir en los registros. Situado enfrente del primate, había un monitor (Belinea, luminancia media de 14cd/m², un contraste de 6,6 y una frecuencia de refresco de 128 Hz) en el cual aparecían los estímulos visuales que constituían las tareas que realiza el animal.

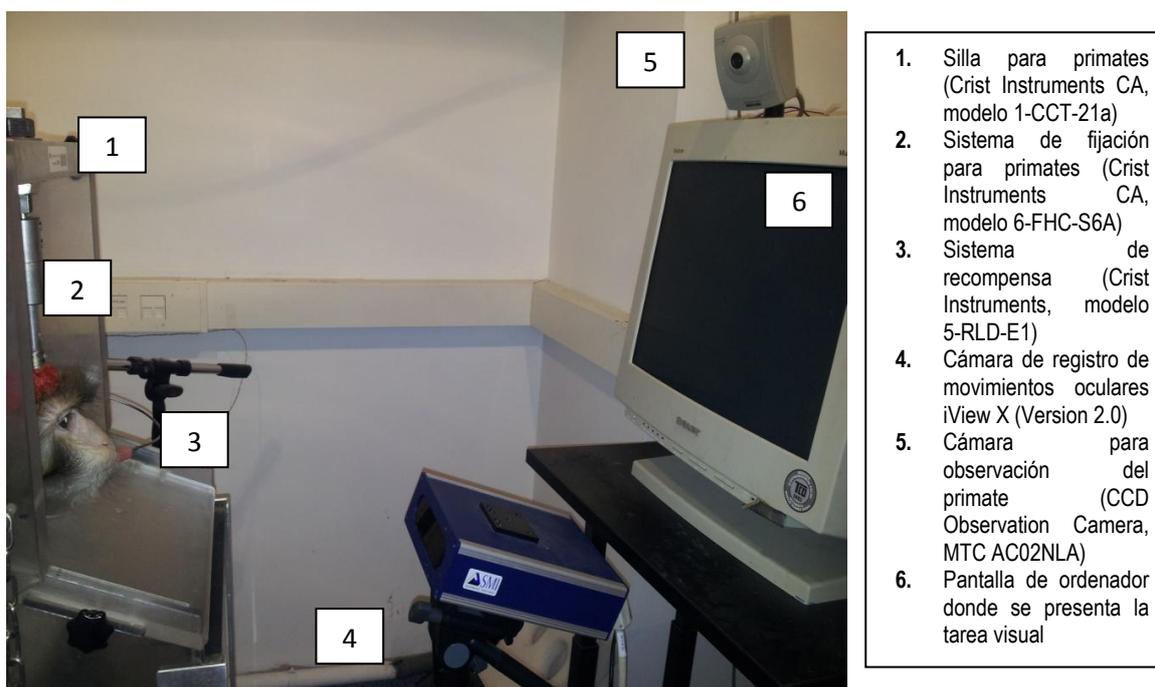


Fig. 4.7 Montaje general de la sala de trabajo del primate. Se observa al animal situado frente a la pantalla donde se presenta la tarea visual que ha de resolver mediante movimientos sacádicos, los cuales son registrados con un sistema de registro de movimientos oculares (en la imagen se observa la cámara de registro), enviando la información al software de análisis. La recompensa se administra automáticamente cuando la tarea es correctamente realizada.

El sistema de control de movimientos oculares estaba situado entre el mono y el monitor, y registraba la posición de los ojos durante la realización de la tarea (iView X, Version 2.0). Este sistema permite determinar la posición del ojo mediante complejos algoritmos matemáticos que generan un vector de posición en el espacio utilizando como referencia los reflejos corneal y pupilar, pudiendo deducir la dirección de la mirada. Frecuencia de muestreo 500 Hz. Agudeza de posicionamiento de la mirada 0,25°.

Una cámara de observación controlada desde la sala de contigua (CCD Observation Camera, MTC 4C02NLA) enfocaba al animal en todo momento, para comprobar que el primate se encontraba en perfecto estado.

4.5.2 SISTEMA DE GENERACIÓN DE ESTÍMULOS VISUALES Y DE REGISTRO: MONTAJE GENERAL

Los registros llevados a cabo en los protocolos experimentales fueron siempre unitarios y extracelulares, realizados con electrodos de tungsteno (12 M Ω , FHC inc.). Para realizar dicho registros en el NGL, se utilizó un micromanipulador (Narishigue, M-097 Oil Hydraulic Micromanipulator) que se colocaba diariamente sobre la cámara de registro implantada crónicamente sobre el NGL del animal, seleccionando las coordenadas exactas de penetración del electrodo mediante el eje de abscisas y ordenadas del micromanipulador, lo cual permitía una localización exacta de cada posición de registro y un adecuado mapeo de la estructura. Debido a que al realizar la craneotomía al animal no se retiró la duramadre por motivos de prevención (evitar infecciones, etc), fue necesario el uso de un tubo guía (23 C.F.S., tube type 304, 0.33 mm d.i.) para proteger el electrodo al atravesar la meninge, y así evitar su deterioro. El electrodo permanecía dentro del tubo guía hasta que éste se situaba justo por encima del NGL (~ 4000 micras desde el punto en el cual se atravesaba la duramadre). A partir de este momento, se iba bajando el electrodo estimulando alternativamente los ojos del animal con ráfagas de luz a diferentes frecuencias.

Una vez localizada una neurona talámica con una adecuada relación señal/ruido, se localizó el CR de la misma, teniendo en cuenta que éste debía estar dentro de la pantalla a no más de 9° de distancia del punto de fijación al que debía mirar el primate, para permitir una correcta resolución de la tarea. Para determinar el centro del CR de la célula, así como el tipo celular, se aplicó el *protocolo 0*, tarea descrita a continuación en el siguiente apartado (*ver apartados 4.5.3 y siguientes*).

A continuación, se realizó de la tarea visual correspondiente y el consiguiente registro de la actividad celular (*ver Fig. 4.8, en página siguiente*). Los movimientos de los ojos durante la realización de la tarea fueron registrados mediante un sistema de seguimiento de movimientos oculares iView X (Version 2.0) (*Fig. 4.8 (3)*). El software Cortex 2.0 para Windows (*Fig. 4.8 (1)*) fue el programa elegido para la generación de los estímulos visuales, y los registros electrofisiológicos se obtuvieron mediante el programa Spike2 para Windows (version 6, con tarjeta CED Power 1401) (*Fig. 4.8 (5)*).

Para la realización de las tareas visuales, el animal, tenía situado enfrente y a una distancia de 57 cm (de manera que un cm equivaliese a un grado de ángulo visual), un monitor en el cual

aparecían las diferentes tareas (Fig. 4.8 (2)). Previamente al entrenamiento para las mismas, se le enseñó a cada uno de los animales a fijar la mirada durante 2 segundos sobre un punto que aparecía en el centro del monitor, circunscrito a una ventana de 0,6 x 0,6 grados de ángulo visual, hasta que dicho punto desapareciese, momento en el cual, si la fijación se había realizado correctamente, se recompensaba al animal con una gota de agua o zumo (Fig. 4.8 (4)).

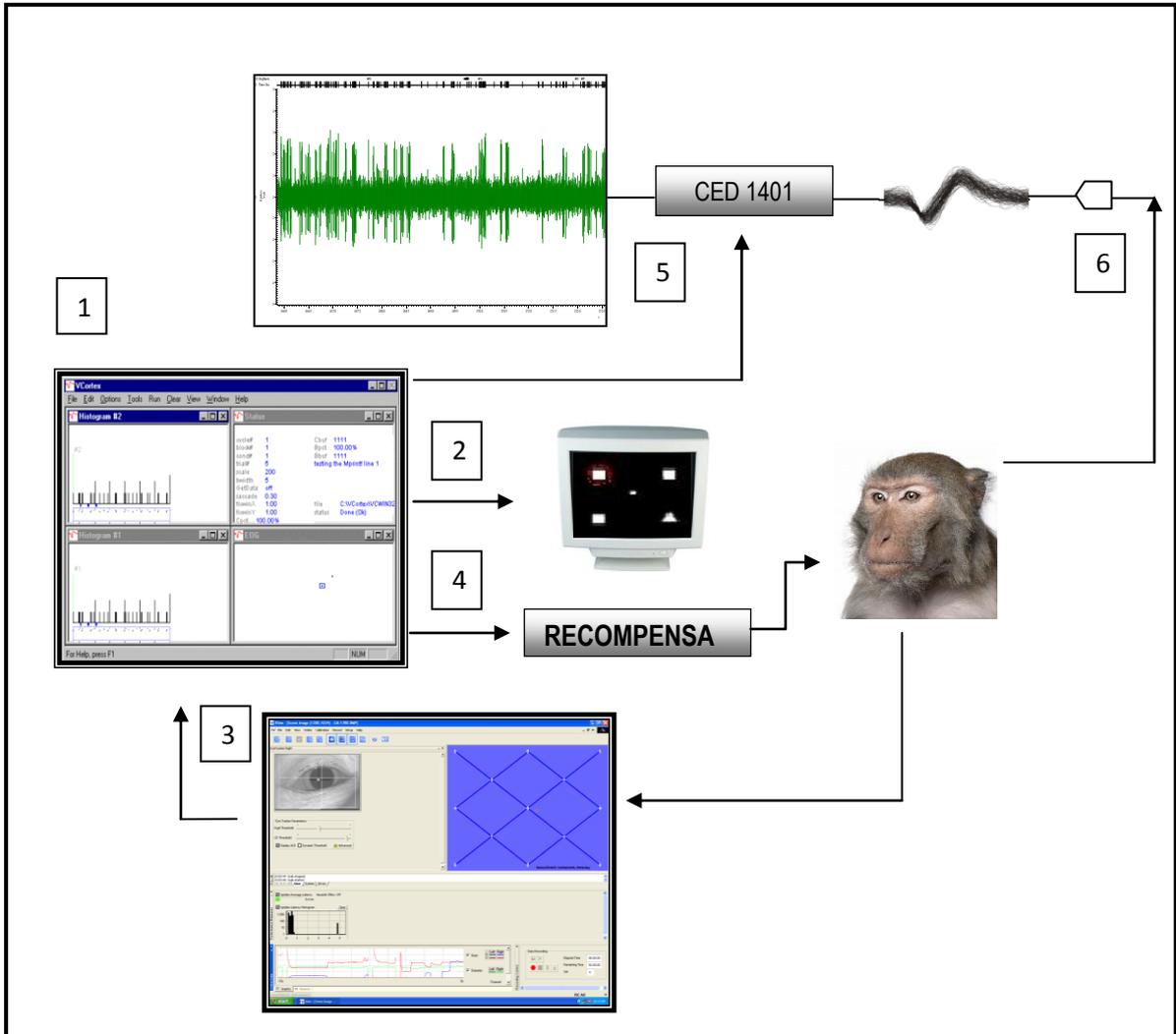


Fig. 4.8 Representación esquemática del montaje general del laboratorio, mostrando las conexiones entre los distintos programas implicados en la proyección de la tarea, el registro de los movimientos oculares y la realización de los registros electrofisiológicos. El software Cortex (1), versión 2.0 para Windows, es el programa encargado de orquestar toda la actividad. En primer lugar, genera la tarea visual (2) que el primate debe realizar. Los movimientos sacádicos mediante los cuales el primate resuelve la tarea, son registrados por el software iView X version 2.0 (3), el cual a su vez envía la información de estas sacadas de regreso al Cortex, el cual, si el primate ha resuelto correctamente la tarea, le dispensa recompensa (4).

Las figuras geométricas que se proyectan en la tarea se colocan de manera que siempre haya una sobre el campo receptor de la neurona que se está registrando. Mediante el Spike2 para Windows (Version 6.0 CED Power 1401) (5), se obtienen los registros neuronales. Previamente a su llegada al Spike, la señal es filtrada y amplificada (6). El Cortex envía información al Spike sobre la tarea que el primate está realizando, así como de los movimientos sacádicos, y es el Spike es el software encargado de integrar toda la información en los registros electrofisiológicos.

4.5.3 TAREAS VISUALES

Los monos fueron entrenados para realizar tres tareas visuales diferentes y complementarias, existiendo un total de 4 protocolos experimentales:

Protocolo 0: Localización y caracterización del campo receptor celular

Protocolo 1: Tarea visual 1

Protocolo 2: Tarea visual 2

Protocolo 3: Tarea visual 1 + Aplicación de EMT

Dichos protocolos se detallan a continuación en los apartados 4.5.4 y siguientes.

4.5.4 PROTOCOLO 0: LOCALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL CAMPO RECEPTOR CELULAR

La tarea que se utilizó para localizar en la pantalla la ubicación del CR de la célula que se estaba registrando consistió en una serie de seis enrejados blancos sobre fondo negro con diferentes orientaciones, con 60 grados de diferencia entre enrejados, que se presentaban sucesivamente a una frecuencia de 15 Hz. Estos enrejados aparecían durante un segundo inmediatamente después de que el mono fijase la mirada en el punto de fijación, al tiempo que se registraba la actividad de la célula bajo estudio. Este estímulo aparecía en cuadrantes sucesivamente más pequeños hasta alcanzar el tamaño de 1° y poder así delimitar el campo receptor y su posición en el espacio visual. Este tamaño se correspondía con las dimensiones del estímulo visual que se utilizó durante las tareas.

Para la caracterización de la célula una vez localizada su posición, se utilizaron enrejados sinusoidales con diferentes frecuencias espaciales (2, 4, 6 y 8 ciclos por grado-cpg), temporales (0,2, 0,6, 1 y 1,4 Hz) y diferentes colores (azul, rojo, verde y blanco), determinando el tipo de campo celular de cada neurona talámica, magnocelular o parvocelular en base a sus "preferencias" respecto a los estímulos.

Las células parvocelulares se caracterizan por responder preferentemente a enrejados con frecuencias espaciales altas (6/8 ciclos por grado-cpg) y temporales bajas (0,2/0,4 Hz), así como a los colores, mientras que las células magnocelulares presentan una mayor respuesta ante estímulos de baja frecuencia espacial y alta frecuencia temporal y ante estímulos acromáticos (Sherman & Spear, 1982; Sherman, 1985; Shapley & Lennie, 1985).

4.5.5 PROTOCOLO 1: TAREA VISUAL 1

En la pantalla, aparecía un punto de fijación de $0,2^\circ$ en el centro de una ventana de fijación de $0,6^\circ$. El animal debía fijar la mirada en este punto durante un intervalo de tiempo variable (450 – 500 ms), para que inmediatamente apareciesen cuatro figuras geométricas equidistantes del punto de fijación, estando una de ellas situada sobre el CR de la célula que se estaba registrando (Fig. 4.9).

El animal, sin mover los ojos de punto de fijación, debía decidir cuál de las figuras era diferente a las otras tres (distractores), y tan pronto como éstas desapareciesen trascurrido un intervalo de tiempo de entre 1,8 y 2 segundos, realizar un movimiento sacádico indicando la situación de la figura distinta.

Diez combinaciones diferentes de estímulos visuales aparecían de forma aleatoria durante el trascurso de la tarea. En el caso de que la célula fuese ON, las figuras eran blancas, al igual que el punto de fijación, apareciendo sobre un fondo negro, y, cuando la célula era de tipo OFF, las figuras eran negras sobre un fondo gris.

La finalidad de esta tarea era comparar la respuesta celular en función de si la figura presente sobre el CR de la célula que se registraba era la figura diferente o uno de los distractores, de manera que se analizaron los distintos tipos de patrones de respuesta celular (ráfagas y tónico) para observar si la presencia del estímulo novedoso sobre el CR suscitaba una respuesta distinta (número de espigas en ráfagas, características intrínsecas de dichas ráfagas...) que sugiriese un procesamiento inicial de la información visual a nivel precortical.

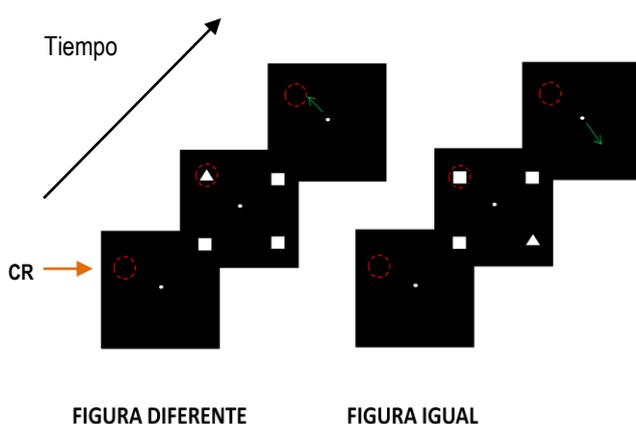


Fig. 4.9 Tarea visual 1. Una vez localizado el CR de la célula que se está registrando, aparece un punto de fijación central y posteriormente 4 figuras geométricas situadas equidistantemente del mismo. Una vez han desaparecido, el animal ha de identificar con un movimiento sacádico la posición que ocupaba la figura diferente. Ésta puede estar localizada sobre el CR de la célula, o bien, ser una de las figuras iguales (distractores) la que se encuentre en dicha posición.

4.5.6 PROTOCOLO 2: TAREA VISUAL 2

En la segunda tarea visual (Fig. 4.10), el animal debía indicar con una sacada la posición de una única figura geométrica que aparecía en diferentes ubicaciones en la pantalla. En primer lugar, e igual que en la tarea anterior, el mono debía fijar la mirada en un punto de fijación de $0,2^\circ$ situado en una ventana de fijación de $0,6^\circ \times 6,6^\circ$ durante un intervalo de tiempo variable de 480 – 500 ms. Acto seguido, aparecía en la pantalla una única figura geométrica en una de cuatro posiciones posibles, coincidiendo una de estas con el CR de la célula que se registra. El animal, transcurridos los 0,5 segundos de presencia del estímulo y en los cuales debía mantener la mirada fija en el punto de fijación, realizaba una sacada hacia la posición en la cual se encontraba la figura.

En este caso, se alternaban secuencias de 10 círculos (distractores) con la aparición de una figura diferente (existiendo 10 posibles figuras novedosas). Debido a que solamente una de cada cuatro veces el estímulo, repetido o no, estaba situado sobre el CR de la célula, únicamente se analizaron los datos de esta condición, despreciando los restantes, lo cual obligó a realizar registros de mayor duración que en la tarea anterior.

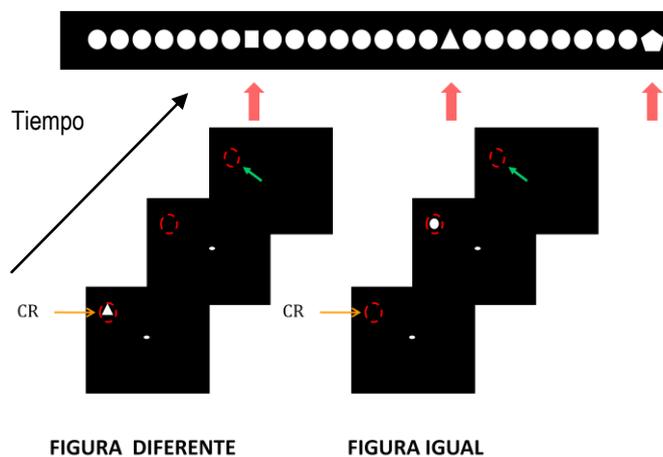


Fig. 4.10 Tarea visual 2. Se presenta una serie de figuras geométricas, de manera que una figura (círculo) aparece en secuencias de 10 repeticiones (figura igual o distractor). Esta serie de repeticiones alterna con la aparición de figuras geométricas distintas (señaladas con flechas en la secuencia de ejemplo). Las figuras aparecen en diferentes posiciones en la pantalla, de manera que $\frac{1}{4}$ parte de las veces el estímulo está localizado sobre el CR celular. El animal ha de indicar con una sacada la posición de la figura en cada ensayo, una vez ésta ha desaparecido.

4.5.7 PROTOCOLO 3: TAREA VISUAL 1 y EMT

En el protocolo 3, se comparó la respuesta celular durante la resolución de la tarea visual 1, previa y posteriormente a la aplicación de EMT sobre la corteza visual primaria, utilizando estimulación repetitiva y a bajas frecuencias, y generando, por tanto, un efecto inhibitorio sobre V1 que debería afectar a las proyecciones córticofugales y, por tanto, a la actividad talámica.

El protocolo de EMTr consistió en la aplicación de pulsos a 0,8 Hz, al 60% de intensidad del equipo, y durante 4 minutos. Estudios previos habían determinado que la aplicación de pulsos repetitivos a bajas frecuencias favorecía la inhibición prolongada de la actividad neuronal en ese área (Chen et al., 1997; Moliadze et al., 2003), necesaria para poder observar la respuesta talámica independientemente de la influencia del bucle córtico talámico sobre el NGL.

Se utilizó un sistema Magstim Rapid (The MagStim Company Ltd, Whitland, UK) con dos bancos de condensadores (del inglés, boosters), con una bobina en forma de 8 de 2x25 mm (fig 4; A, B, C). Las bobinas en forma de ocho son más focales que otros diseños, generando una corriente eléctrica máxima en la intersección de ambos componentes de la bobina (Hallett, 2007). Al tratarse de una bobina de pequeño tamaño, el campo eléctrico generado se encuentra más concentrado en el espacio, presentando una buena precisión espacial para estimular la corteza.

Se colocó el punto medio de la bobina sobre el centro de corteza visual primaria en el mismo hemisferio en el cual se encontraba la craneotomía, tomando como referencia para determinar el punto de estimulación, la ubicación de la cámara de registro, ya que el cráneo estaba recubierto por las capas de cemento dental que anclaban el poste de fijación y la cámara de registro al mismo.



Fig. 4.11 A) Imagen del aparato de EMT Magstim Rapid 200 utilizado en el protocolo experimental. B) Imagen de ambos condensadores utilizados para la EMT. C) Imagen de la bobina en ocho de dimensiones 2x25 mm utilizada para la EMT.

El protocolo experimental consistía en (Fig. 4.12):

- Registro durante 5 minutos de la actividad celular talámica durante la realización de la tarea 1
- Aplicación de 4 minutos de EMTr sobre la corteza visual primaria (V1) al 60% de intensidad y con una frecuencia de 0,8 Hz
- Registro inmediatamente posterior a la aplicación de la EMT durante 4 minutos
- Reposo durante 10 minutos que permitía la recuperación completa de la actividad cortical normal
- Registro para observar la recuperación de la actividad neuronal durante 5 minutos mientras se realiza de nuevo la tarea visual 1.

PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL

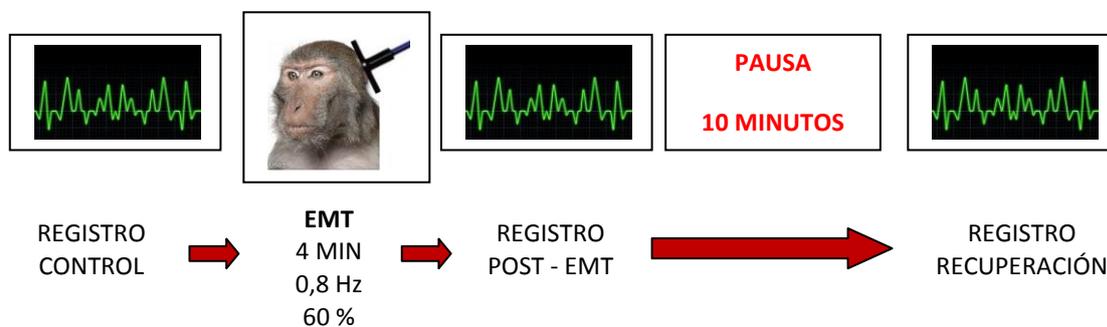


Fig. 4.12 Protocolo de experimentación con EMT. Se realiza un registro control previo a la aplicación de la EMT. Se aplica la EMT durante 4 minutos de tiempo, a una frecuencia de 0,8 Hz y al 60% de intensidad sobre la corteza visual primaria. Inmediatamente después, se realiza otro registro electrofisiológico para comprobar la influencia de la EMT sobre la actividad neuronal en el NGL. Se realiza una pausa de 10 minutos para permitir la recuperación total de la actividad neuronal y se vuelve a realizar un tercer y último registro para comprobar los niveles de actividad neuronal.

Como el análisis de los registros celulares se realizaba una vez finalizada la sesión (offline), durante el protocolo de experimentación, para comprobar si la actividad neuronal se había recuperado, se utilizaban histogramas periestímulo generados *online*, los cuales eran un indicio de si la actividad en el registro de recuperación era semejante a la inicial, si bien era preciso un análisis posterior para comprobar el efecto de la EMT sobre la neurona estudiada a lo largo del protocolo.

4.6 ANÁLISIS DE DATOS Y ESTADÍSTICA

Una vez obtenidos los registros electrofisiológicos, se procedió a aislar la respuesta de la célula registrada del ruido colindante, ya que los registros llevados a cabo son extracelulares. Esto se realizó mediante el software informático Spike 2.0, el cual permite identificar y agrupar las espigas, en función de diversos parámetros, como pertenecientes a un mismo grupo (correspondiéndose cada grupo con una célula). El programa transforma cada una de las espigas registradas y aisladas en una marca temporal que será el dato analizado posteriormente.

Una vez identificadas las espigas pertenecientes a la célula que registramos, procedemos a su clasificación. En función de parámetros temporales (50 ms de silencio previo, un mínimo de dos espigas consecutivas con un intervalo máximo entre las mismas de 6 ms), podemos diferenciar ráfagas de bajo umbral y espigas tónicas. Se determinó el número de espigas para cada ensayo correctamente realizado, diferenciando los ensayos en función del estímulo: figura diferente o novedosa y distractores.

A continuación, la respuesta para cada tipo de estímulo visual se dividió en sus componentes, tónico y en ráfaga, obteniendo cuatro datos distintos: la respuesta en ráfagas de bajo umbral y la respuesta tónica, para la figura diferente y los distractores. El número de espigas se normalizó en función del número de ensayos de cada tipo, ya que la proporción es de 3:1 entre distractores y figura novedosa o diferente.

El objetivo de los análisis era determinar las características de cada tipo de respuesta así como su posible funcionalidad comparando el comportamiento de cada patrón de respuesta ante diversos estímulos visuales. Los análisis se dividieron en 5 bloques principales, todos ellos aplicados a las dos tareas visuales explicadas anteriormente:

- a) Comparación del número de espigas en ráfaga y tónicas en función de si el estímulo presente es el repetitivo o el diferente para intentar establecer características funcionales en los distintos patrones de disparo, en caso de existir diferencias significativas.
- b) Comparación de las distribuciones de densidad de probabilidad de los distintos tipos de respuesta (ráfagas de bajo umbral y tónicas) en función del estímulo presente (figura diferente o distractores).

La distribución de densidad de probabilidad es una función que determina la probabilidad relativa de que una variable tome un valor concreto (Paren, 1962). Aplicado a nuestro caso, la densidad de probabilidad determina la posibilidad de aparición, en un determinado intervalo dentro de la ventana temporal de 100 ms tras la presentación del estímulo, de las espigas en ráfaga en función de los distintos estímulos mostrados, los distractores o la figura novedosa

- c) Determinar la existencia de una posible disminución del número de espigas en ráfaga en función de la habituación a la tarea como resultado de una pérdida de novedad de la misma, y comparación de esta disminución entre estímulos iguales y diferentes.
- d) Determinar si existen diferencias significativas entre las características de las ráfagas de bajo umbral (frecuencia, duración y número de espigas) en función del estímulo mostrado (novedoso o distractor)
- e) Comparación de la respuesta visual espontánea y evocada por los estímulos visuales de la tarea 1, antes y después de la aplicación de EMT sobre la corteza visual.

Para realizar estos análisis, y para la posterior aplicación de los test estadísticos, se utilizan los programas Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics^{TMS}) y Matlab 2011 (Matlab mathworks). Para la estadística, se utilizaron varios tipos de test en función de las necesidades de cada análisis (Kolmogorov-Smirnov, Chi cuadrado, T student, etc). Para todos ellos, se consideró estadísticamente significativo un p-valor $< 0,05$.

En la realización de los análisis, no se diferenciaron los tipos parvocelular y magnocelular de la muestra, ya que no se encontraron diferencias entre ellos en los parámetros estudiados.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS PATRONES DE DISPARO NEURONAL EN EL TÁLAMO (NGL)

Se registraron un total de 96 células en dos primates adultos (*Macaca mulatta*), de las cuales 80 pertenecían al tipo parvocelular y 16 al tipo magnocelular. Del total de células, 50 fueron registradas mientras los primates resolvían la tarea 1, y 46 mientras realizaban la tarea 2 (ver material y métodos).

Teniendo en cuenta que el ratio señal-ruido es un factor determinante en el análisis de los registros realizados, especialmente por tratarse de registros extracelulares donde es relativamente sencillo confundir la señal de la célula que se está registrando con la de otras células colindantes, se tuvo especial cuidado en seleccionar aquellos registros con una óptima calidad de señal.

En las figuras 5.1 a 5.4 se muestran ejemplos de registros electrofisiológicos en crudo, correspondientes a actividad celular espontánea (Fig. 5.1 y 5.4) y respuesta visual ante un estímulo (Fig. 5.2 y 5.3) en células de tipo parvocelular y magnocelular en ambos monos (F1 y F2). Los registros se presentan ampliados a diferentes escalas, mostrándose en la parte superior de cada registro canales de marcas temporales, fruto de la transformación de cada una de las espigas en tiempos, en función de los diversos patrones temporales adoptados para clasificar las espigas.

En la figura 5.1, se muestra un registro durante actividad espontánea de una célula parvocelular. En una ampliación parcial del registro, enmarcada en el recuadro punteado en rojo (Fig. 5.1.B) se muestra un conjunto de espigas: las dos primeras espigas son del tipo tónico, seguidas por una ráfaga constituida por tres espigas, y a continuación aparecen de nuevo una serie de espigas tónicas. Los dos tipos de disparo neuronal, tónico y en ráfaga, son claramente diferenciables mediante patrones temporales, como se puede observar en el cuadro inferior (Fig. 5.1.C), en el cual se indican los tiempos entre espigas (s). Se observa que las espigas 3, 4 y 5 pertenecen a una ráfaga de bajo umbral por cumplir los requisitos establecidos (dos o más espigas, con un mínimo de 50 ms de silencio previo y un máximo de 6 ms interespiga), siendo las restantes espigas consideradas tónicas al no cumplir dichos parámetros.

En las siguientes figuras (Fig. 5.2 y 5.3), se muestran registros extracelulares de dos células, de tipo parvocelular y magnocelular respectivamente, respondiendo a la presencia de una figura sobre el campo receptor de la célula. En ambos casos se muestra el fragmento de registro correspondiente al período inmediatamente posterior a la aparición del estímulo, donde se aprecia la generación de una ráfaga de bajo umbral (enmarcada en un recuadro rojo en la figura) seguida de una serie de espigas tónicas. En las figuras no se muestran los 50 ms de silencio previo a la ráfaga, sólo un breve período de tiempo como representación del mismo. En la parte superior del registro aparecen los correspondientes canales de marcas temporales para las ráfagas y las espigas tónicas, fruto de la conversión de cada una de las espigas en un tiempo para su posterior análisis.

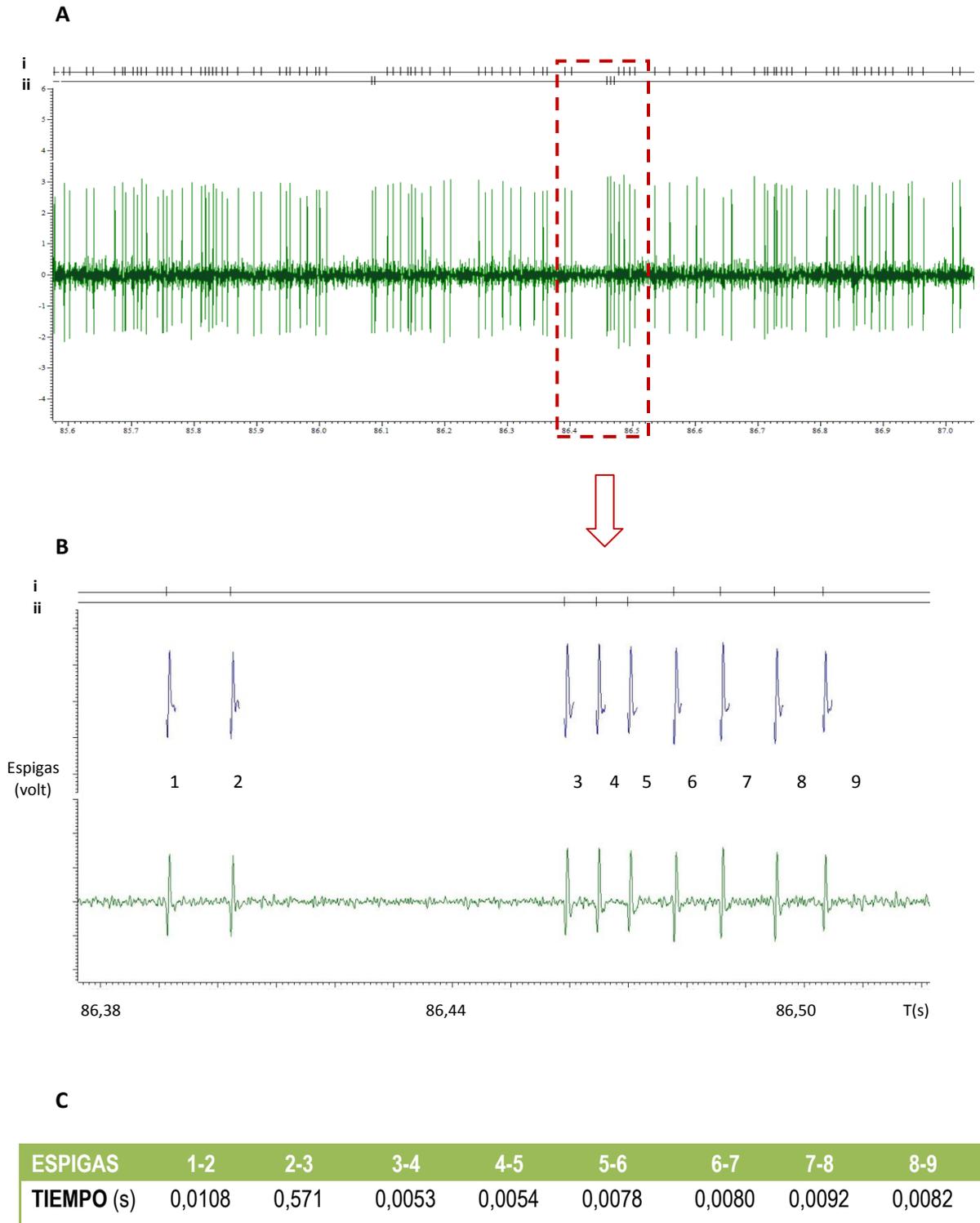


Fig. 5.1 **A)** Registro unitario extracelular de una célula parvocelular en mono despierto (*Macaca mulatta*) durante respuesta espontánea (célula 1-F1). Se muestra el registro crudo y los canales generados por la transformación de las espigas en marcas temporales, separándolas en espigas tónicas (i) y en ráfaga (ii), en base a patrones temporales concretos. **B)** Ampliación donde se muestran espigas en ráfaga y tónicas, determinando en el recuadro inferior, **C)** los tiempos (s) entre las mismas, de manera que sólo las espigas 3, 4 y 5 forman una ráfaga.

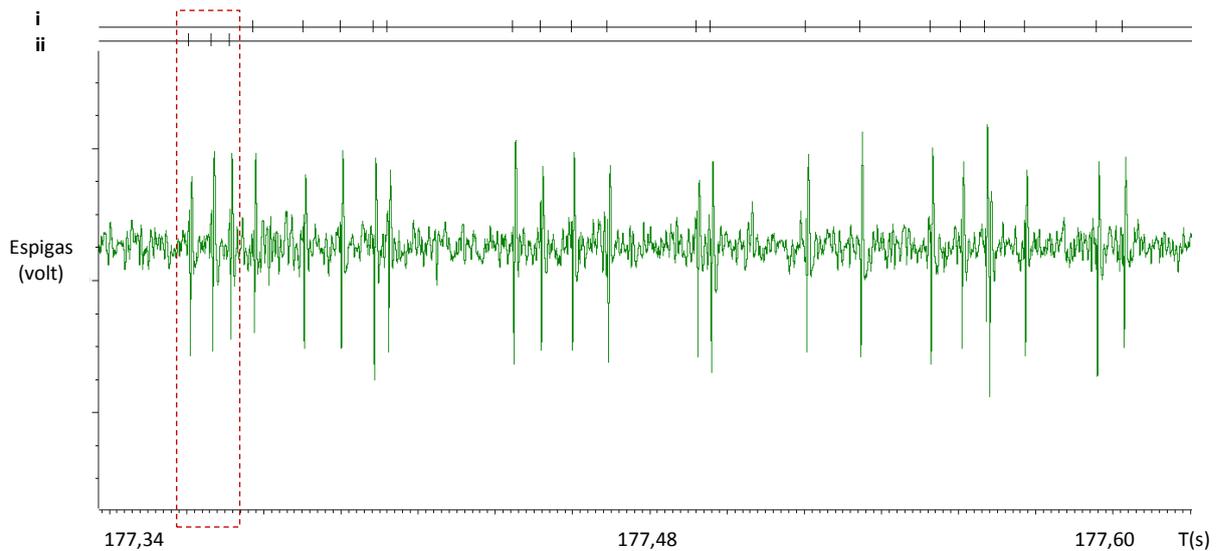


Fig. 5.2 Registro extracelular unitario de una célula de tipo parvocelular (célula 4-F1). Respuesta a un estímulo visual, se observa la aparición de una ráfaga (espigas en el recuadro rojo) seguida de la respuesta tónica. En la parte superior, aparecen los canales de marcas temporales correspondientes a las espigas tónicas (i) y las espigas en ráfaga de bajo umbral (ii).

La respuesta celular se puede clasificar en función de otros parámetros temporales diferentes a los que determinan la existencia de ráfagas de bajo umbral y espigas tónicas. Así, por ejemplo en la Fig. 5.3, dentro del conjunto de espigas previamente clasificadas como tónicas, podemos encontrar una subpoblación de espigas identificables en función de otros patrones temporales (no más de 6 ms entre espigas y un mínimo de tres espigas consecutivas), denominadas *ráfagas de alto umbral*, las cuales no están ligadas a corrientes de calcio de bajo umbral (y por lo tanto no es preciso un intervalo de silencio previamente a su aparición), sino que son potenciales de acción de Na^+ y K^+ con una elevada frecuencia de disparo.

Aunque las ráfagas de alto umbral han sido extensamente estudiadas como un patrón de disparo bien definido (Guido et al., 1992, 1995; Swadlow & Gusev, 2001; Rivadulla et al., 2003), no deja de constituir un subgrupo dentro del disparo tónico. Por ello, en este trabajo no se ha realizado la diferenciación de estas espigas como un subconjunto independiente, y ha sido analizado como parte de la respuesta tónica.

En la figura 5.4, se observa un registro electrofisiológico de una célula de tipo magnocelular durante actividad visual espontánea. La figura se presenta con una escala temporal mayor, de manera que se pueden apreciar varias ráfagas de bajo umbral (señaladas con flechas en la figura), correspondiéndose la flecha roja con la ráfaga constituida por un mayor número de espigas. Se observa la existencia de ráfagas intercaladas con el disparo tónico.

La presentación de varias figuras mostrando registros electrofisiológicos de distintas características (tipo celular, distinto sujeto de experimentación, distinta escala temporal) tiene como finalidad demostrar la calidad de la señal (ratio señal - ruido) de los mismos, así como probar la

existencia de ráfagas durante la respuesta visual a un estímulo y de forma espontánea, siendo un fenómeno usual durante estados de alerta.

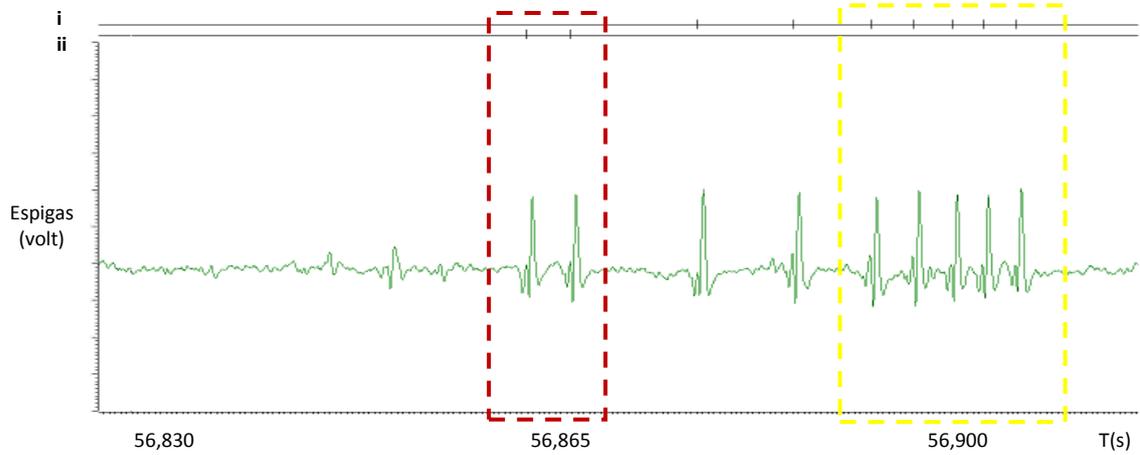


Fig. 5.3 Registro extracelular unitario de una célula magnocelular (célula 6-F2). Respuesta a estímulo visual, observándose igual que en el caso anterior una ráfaga de bajo umbral (en la imagen en el recuadro rojo), seguidas de una serie de espigas tónicas, pudiendo clasificarse como ráfaga de alto umbral el conjunto final de espigas enmarcadas en el recuadro amarillo. (i) e (ii) se corresponden, respectivamente, con los canales de marcas temporales tónicos y en ráfaga.

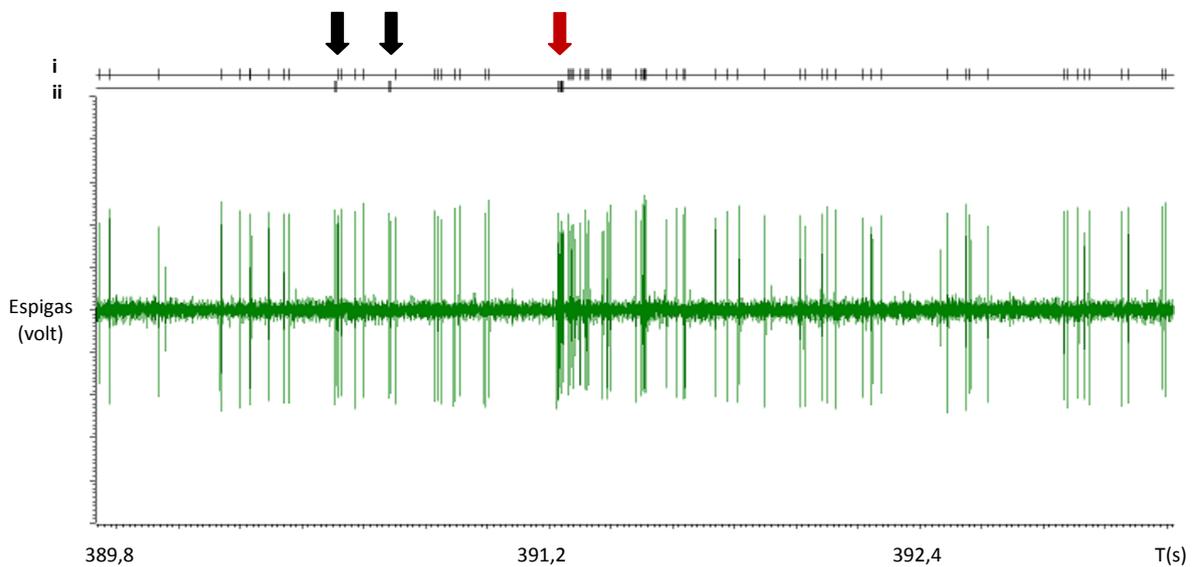


Fig. 5.4 Registro extracelular unitario de una célula magnocelular (célula 2-F2), durante respuesta espontánea. Se observan varias ráfagas de bajo umbral, representadas por marcas temporales en el canal ii. Las flechas señalan las ráfagas de bajo umbral, correspondiéndose la ráfaga con mayor número de espigas con la flecha roja. Intercaladas con las ráfagas de bajo umbral, aparecen una serie de espigas que pueden ser consideradas como espigas tónicas o ráfagas de alto umbral, en función de la clasificación temporal utilizada.

5.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE DISPARO EN LA RESPUESTA VISUAL

El análisis de la distribución de las espigas en ráfagas y tónicas en respuesta a la estimulación visual resultó ser muy diferente. En la figura 5.5 se muestra la representación de la respuesta promedio de 50 células ante un estímulo visual situado sobre el campo receptor (columna de la izquierda), en este caso correspondiente a la resolución de la tarea 1, así como un ejemplo de la respuesta de una única célula ante el mismo estímulo visual (Fig. 5.5, columna de la derecha). En las figuras 5.5A, se muestra toda la respuesta visual ante dicho estímulo, y posteriormente se divide en sus componentes, tónico y ráfagas de bajo umbral (Fig. 5.5B y C). Mientras que las espigas tónicas muestran una respuesta sostenida durante toda la presencia del estímulo visual, (Fig. 5.5 B), la respuesta en ráfagas de bajo umbral (Fig. 5.5D) consiste en una respuesta transitoria, que se genera inmediatamente después de la aparición del estímulo, desapareciendo aproximadamente transcurridos 100 ms.

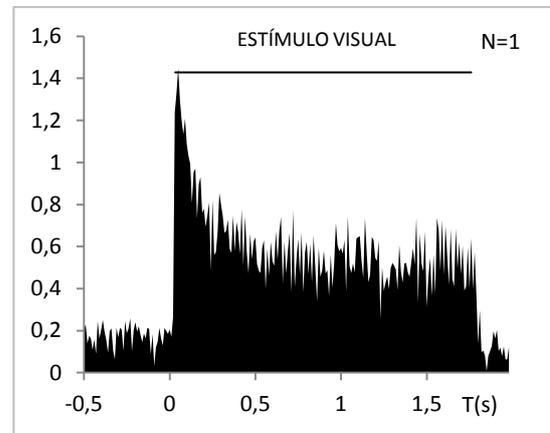
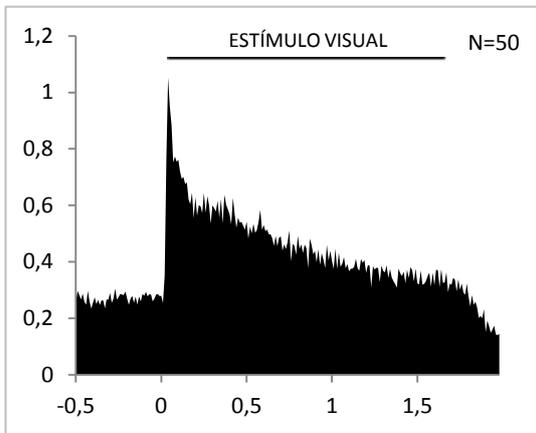
Las diferencias en las distribuciones de las ráfagas y las espigas tónicas responden a diferencias funcionales. Así, la respuesta en ráfagas de bajo umbral constituye la primera fracción de la respuesta visual. Las ráfagas se generan rápidamente tras la aparición del estímulo, siendo una respuesta transitoria que se mantiene durante 100 ms, descendiendo a niveles basales muy bajos trascurrido este período de tiempo (ver Fig. 5.6A). De hecho, las ráfagas de bajo umbral constituyen un $12,10 \pm 6,58\%$ del total de las espigas durante la respuesta celular en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo, siendo sólo un $5,5 \pm 2,836\%$ de la respuesta espontánea en este mismo intervalo de tiempo previamente a la presentación del mismo por lo que centraremos los análisis en este período de tiempo. Ambos datos referentes al porcentaje de espigas en ráfaga de bajo umbral muestran que, a pesar de existir una repuesta en ráfaga generalizada para 96 de las 98 células que constituyen la muestra, el porcentaje de ráfagas varía considerablemente en función de la célula analizada.

En la figura 5.6 B, se muestra la diferencia entre el porcentaje de aumento de las ráfagas entre la respuesta visual espontánea y la respuesta visual ante un estímulo, frente al incremento de respuesta de la respuesta tónica en las mismas condiciones. Proporcionalmente, se observa un aumento muy superior en el caso de las ráfagas de bajo umbral, ya que la respuesta basal es mucho menor que la existente en el disparo tónico. Esta característica, elevado ratio señal: ruido (siendo la señal la respuesta ante un estímulo y el ruido la respuesta espontánea), confiere a las ráfagas una gran ventaja frente al disparo tónico a la hora de detectar estímulos visuales y transmitir información eficazmente a la corteza.

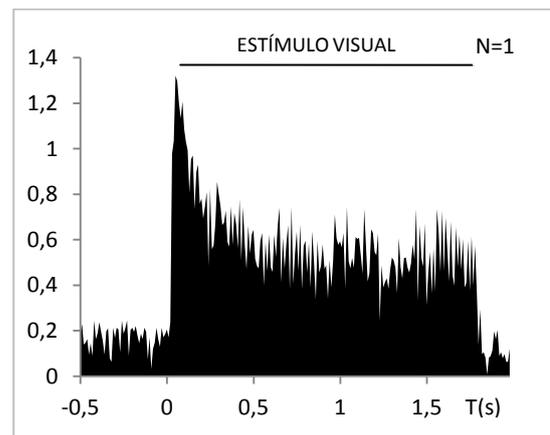
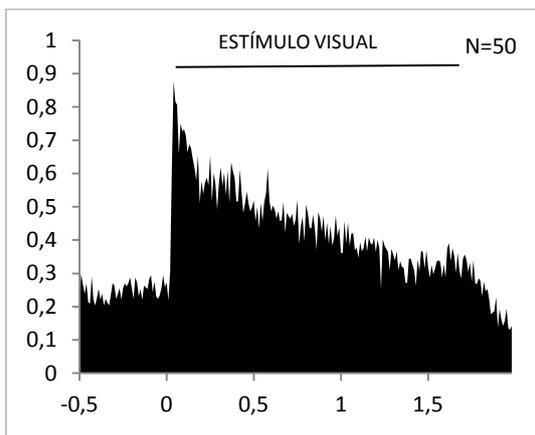
Las espigas tónicas aparecen a continuación de las ráfagas, presentando un pico máximo de respuesta durante los 250-500 ms iniciales, seguido de una respuesta sostenida durante la presencia del estímulo visual, la cual va descendiendo con el tiempo.

A RESPUESTA VISUAL EVOCADA

espigas/bin/ensayo



B ESPIGAS TÓNICAS



C RÁFAGAS DE BAJO UMBRAL

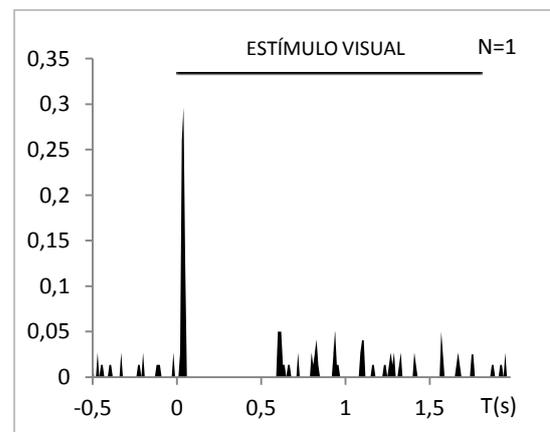
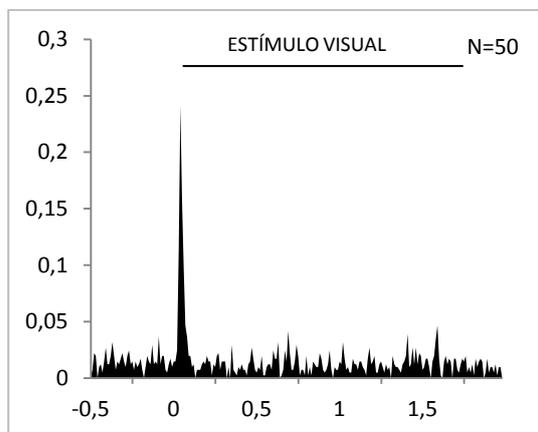
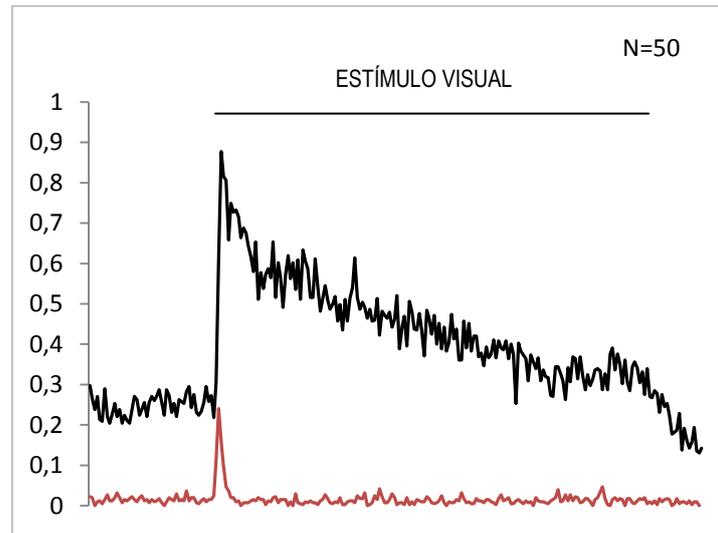


Fig. 5.5 Respuesta visual de 50 células de tipo magnocelular y parvocelular a un estímulo estático presente dos segundos sobre el campo receptor celular (columna de la izquierda), y ejemplo de la respuesta de una única célula tipo parvocelular (columna de la derecha). Los resultados se presentan en espigas por bin, siendo estos de 10 ms de duración. **A)** Toda la respuesta visual al estímulo. **B)** Respuesta tónica. **C)** Respuesta en ráfagas de bajo umbral.

A



B

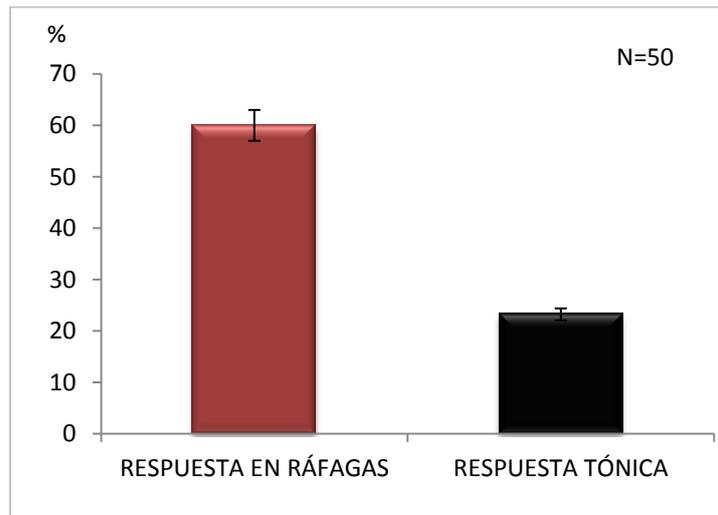


Fig. 5.6 A) Ejemplo de distribución de la respuesta tónica (en negro) y la respuesta en ráfagas (en rojo) para una muestra de 50 neuronas talámicas ante la presencia de un estímulo visual. Se puede observar que el porcentaje de espigas tónicas es muy superior al de ráfagas, si bien proporcionalmente el aumento de las ráfagas durante la respuesta visual inmediatamente después de la aparición del estímulo es superior al de las espigas tónicas.

B) Gráfica indicando el porcentaje de aumento de la respuesta en ráfagas de bajo umbral y tónica, entre la respuesta espontánea (previa a la aparición del estímulo visual) y la respuesta al estímulo visual, tomando como ventana temporal los 100 ms previos e inmediatamente posteriores a la aparición del mismo.

5.3 PAPEL DE LAS RÁFAGAS DE POTENCIALES DE ACCIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN VISUAL

Una vez determinada la existencia de ráfagas durante la actividad visual y su localización en los 100 ms posteriores a la aparición del estímulo, es preciso concretar la función de estas ráfagas de bajo umbral. Sherman en el 2001 postuló la hipótesis del “wake up call”, basada en la hipótesis previa de Crick (1984) denominada “searchlight”, en la cual se proponía que las ráfagas podían actuar como detectoras de estímulos novedosos en el campo visual. Según esta teoría, el número de ráfagas podría ser diferente en función de lo novedoso que resultase el estímulo presente sobre el CR de la célula.

Para observar posibles diferencias ante distintos estímulos visuales, se plantearon dos tareas (ver material y métodos) en las que se mostraban estímulos novedosos y distractores, comparando la respuesta ante ambos tipos de estímulo.

Los resultados para cada tarea se presentan a continuación de forma independiente, comenzando por la tarea 1.

5.3.1 TAREA VISUAL 1

Se registraron 50 células en dos monos (F1 y F2), 42 de las cuales eran de tipo parvocelular y 8 de tipo magnocelular, sin encontrar diferencias a la hora de realizar los análisis entre ambos tipos celulares, ni en función de si las células eran de centro ON u OFF. En el primer mono se registraron 26 células y en el segundo se registraron 14. De las 50 células, 2 de las de tipo parvocelular no generaron ninguna ráfaga durante el registro.

La tarea visual consistió en la identificación de una única figura diferente de entre 4 figuras presentes en la pantalla situada frente al animal, 3 de las cuales eran distractores. Durante la presentación de los estímulos, uno de ellos se localizaba siempre sobre el campo receptor de la célula que se estaba registrando. El animal debía mantener la mirada en un punto de fijación de 0,2° situado en el centro de la pantalla y enmarcado en una ventana de fijación de 0,6°. La detección del estímulo era indicada por medio de un movimiento sacádico a la posición en la que se encontraba éste. La finalidad de dicha tarea era comparar la respuesta visual cuando el estímulo sobre el CR era el diferente y cuando eran los distractores. Los datos se presentan normalizados en espigas por ensayo, debido a las distintas proporciones de aparición de la figura diferente respecto a los distractores (1:3).

A. ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS EN RÁFAGA Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD

Los resultados (fig 5.7 A y 5.7B) muestran que para los 100 ms tras la aparición del estímulo, el número de ráfagas es mayor cuando la figura sobre el campo receptor celular es la diferente, y que estas diferencias son estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p-valor: 0,00337393)

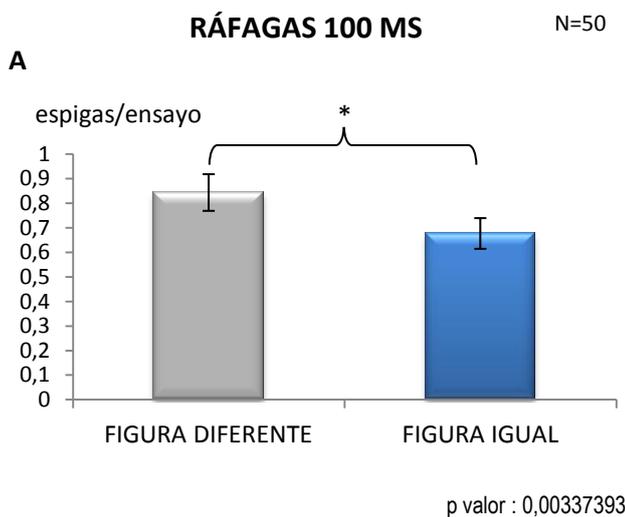
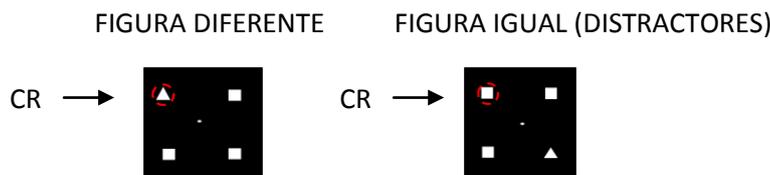
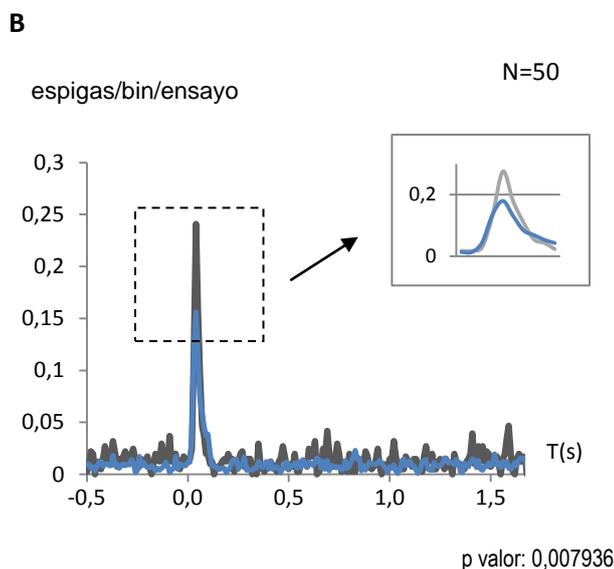


Fig. 5.7 A) Representación del número de espigas en ráfaga por ensayo en 50 células de tipo parvocelular y magnocelular, para las dos condiciones, cuando la figura igual está sobre el campo receptor celular (marcado con un círculo rojo en el esquema de la tarea) o cuando es la figura diferente la presente. Las diferencias entre las dos condiciones son estadísticamente significativas (test chi-cuadrado; p-valor: 0.00337393)



B) Representación de la respuesta en ráfaga para las mismas 50 células ante un estímulo novedoso (en la gráfica, en gris) y los distractores (azul). La respuesta se muestra normalizada en espigas/ensayo/bin (bin=10 ms). La respuesta ante la figura novedosa es mayor (Test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,007936) que ante los distractores en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo (0,00 en la gráfica). Se muestra detalle ampliado del pico máximo de respuesta.

El análisis de las distribuciones de densidad de probabilidad de las espigas en ráfaga para la figura igual y las figuras diferentes o distractores en este mismo período de tiempo (Fig. 5.8), muestra diferencias en función del estímulo (test Kolmogorov-Smirnov; p-valor: 0,0491727), de manera que cuando éste es el novedoso, las espigas aparecen más concentradas en el tiempo.

DISTRIBUCIÓN DE DENSIDAD DE PROBABILIDAD

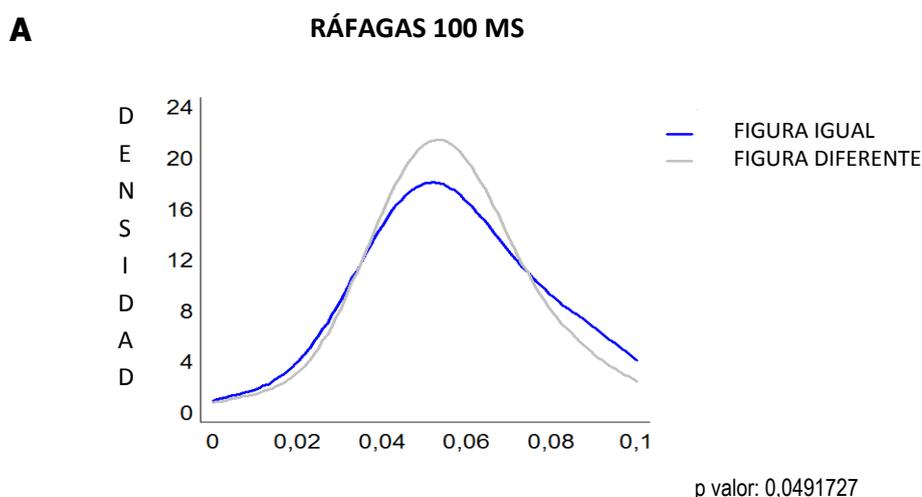


Fig. 5.8 Para la tarea 1, gráfico de distribución de densidad de probabilidad para las espigas en ráfaga comparando la distribución en función del estímulo presente sobre el campo receptor, para un período de tiempo de 100 ms tras la aparición del estímulo. En gris se representa la distribución de las espigas cuando el estímulo es el diferente y en azul cuando el estímulo es el igual. Se observa que, cuando el estímulo presente es el diferente, las ráfagas se hayan más concentradas en el tiempo, existiendo diferencias estadísticamente significativas para el intervalo de tiempo analizado (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,0491727).

Por tanto, no sólo existen diferencias en el número de espigas en ráfaga en función del estímulo visual mostrado, generándose un mayor número ante estímulos novedosos, sino que además la distribución de estas espigas varía en función del tipo de estímulo. Este hecho implica que la propia ráfaga de bajo umbral generada en el NGL está transmitiendo información a la corteza sobre el estímulo presente, como parte de un procesamiento visual inicial. La brevedad del tiempo analizado (100 ms tras la aparición del estímulo) refuerza la teoría de una participación activa del NGL en este primer filtro de información.

B. ANÁLISIS CLUSTER

En vista de las diferencias en la distribución y número de ráfagas en función del estímulo, nos planteamos un segundo análisis más específico de las características intrínsecas de las ráfagas de bajo umbral. Para ello, se realizó un análisis cluster de las ráfagas existentes en estos primeros 100 ms tras la aparición del estímulo, en función de tres parámetros (denominados centroides), frecuencia, duración y número de espigas, los cuales consideramos más susceptibles de variación, basándonos en los resultados previos.

El análisis cluster es una técnica que permite clasificar u ordenar datos en grupos, de forma que el grado de similitud o asociación entre miembros del mismo cluster sea mayor que entre miembros de clusters diferentes. Mediante este análisis, pretendíamos establecer una relación entre las características de las ráfagas y el estímulo mostrado, que nos indicasen algún tipo de codificación de información por parte de la ráfaga (Baró & Alemany, 2000).

El análisis cluster se realizó de forma independiente para ambos estímulos visuales, distractores y figura novedosa o diferente. En el caso de los distractores, tras el análisis cluster, se definieron 2 grandes grupos de espigas (Fig. 5.9A), uno de los cuales, en este caso el correspondiente al cluster nº 1, comprendía el 81,37% de la variabilidad de las espigas en ráfagas, con un total de 904 espigas. La frecuencia en este cluster mayoritario era de 467,512 Hz y la media del número de espigas es 2,407 indicando que la mayoría de las ráfagas están compuestas por dos o tres espigas (Fig. 5.9B).

En la figura 5.9C, se observa el dendrograma obtenido a partir de los cluster. Un dendrograma es una representación gráfica en forma de árbol que resume el proceso de agrupación en un análisis de clusters. Los grupos similares se conectan mediante enlaces, y la posición en el gráfico determina el nivel de similitud entre ellos (Baró & Alemany, 2000).

Figura igual (Distractor)

A. Resumen características cluster

Cluster	Miembros	Porcentaje
1	904	81,37
2	184	16,56
3	23	2,07

B. Centroides

Cluster	Frecuencia	Duración	Nº Espigas
1	467,512	0,00561585	2,40708
2	1016,1	0,0021156	2,05435
3	342,773	0,0395083	13,5652

C.

DENDROGRAMA

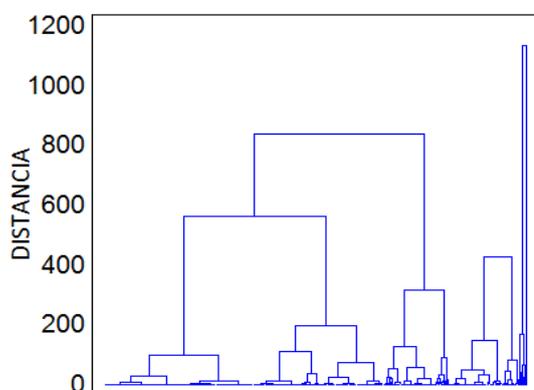


Fig. 5.9 Análisis cluster para las características de las ráfagas, frecuencia, duración y nº de espigas para la figura igual. **A)** Resumen de los cluster formados. **B)** Valores de las distintas variables para cada uno de los cluster **C)** Dendrograma de clusters (método Ward's, Squared Euclidean)

Los análisis estadísticos se realizarán sobre el cluster mayoritario, que en este caso es el número 1.

Figura diferente

En el caso de la figura diferente, el análisis de los tres parámetros (frecuencia, duración y número de espigas) también encontramos un cluster mayoritario (nº1 en la gráfica), que abarca aproximadamente el 70% de las espigas en ráfaga (Fig. 5.10A). Dicho cluster posee una frecuencia temporal de 434,476 Hz, con una duración y un número de espigas superiores a los mostrados con la figura igual o distractor: 0,00595122 (s) y 2,43759 espigas por ráfaga (Fig. 5.10B). En la figura 5.10C, se muestra el dendrograma correspondiente, representando los distintos clusters formados al realizar el análisis.

A. Resumen características cluster

Cluster	Miembro	Porcentaje
1	713	69,70
2	289	28,25
3	21	2,05

B. Centroides

Cluster	Frecuencia	Duración	Nº Espigas
1	434,476	0,00595122	2,43759
2	881,657	0,00245727	2,0346
3	341,429	0,0295895	10,1429

C. DENDROGRAMA

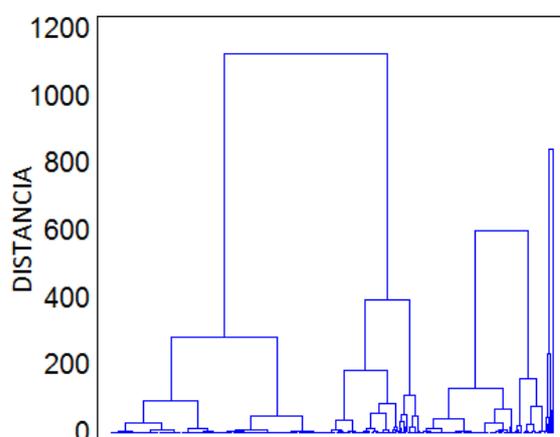


Fig. 5.10 Análisis cluster para las características de las ráfagas frecuencia, duración y nº de espigas para la figura diferente. **A)** Resumen de los cluster formados. **B)** Valores de las distintas variables para cada uno de los cluster **C)** Dendrograma de clusters (método Ward's, Squared Euclidean)

Los análisis estadísticos se realizarán sobre el cluster mayoritario, al igual que en el caso anterior, es el número 1.

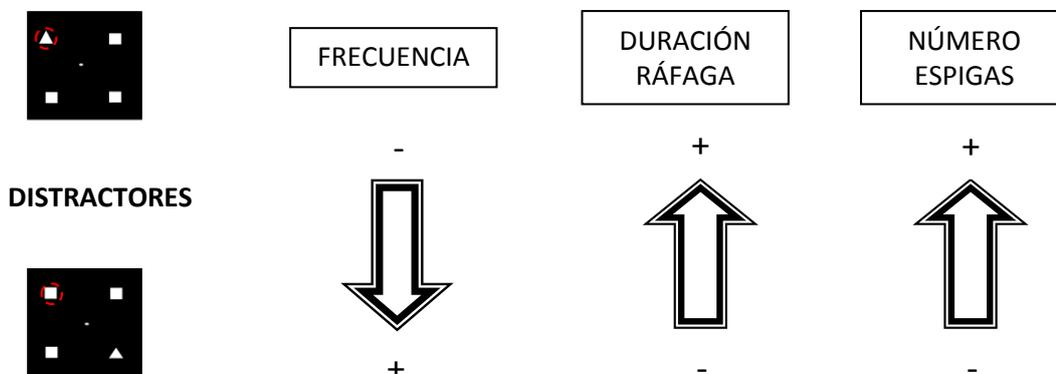
Comparando los valores de frecuencia, número de espigas y duración de la ráfaga en los cluster mayoritarios para el estímulo novedoso y los distractores, los resultados son los siguientes (Fig. 5.11A):

Ante el estímulo novedoso, el número de espigas en ráfaga y la duración de la misma aumentan, en comparación con la respuesta ante los distractores. Sin embargo, cuando es uno de los distractores la figura presente sobre el CR, la frecuencia intrínseca de la ráfaga es mayor, pero el número de espigas y la duración de la misma, disminuyen. Estas diferencias entre los tres parámetros analizados son significativas, en todos los casos, con p-valores inferiores a 0,05 (Fi. 5.11B, tabla de p valores).

Estos resultados demuestran que, no sólo hay diferencias en el número de espigas en ráfagas y su distribución, como observamos en análisis anteriores, sino que además estas ráfagas presentan unas características intrínsecas que varían en función del estímulo presente en el campo visual del primate, codificando información sobre el mismo.

A

FIGURA DIFERENTE



B

VARIABLE	P VALOR
Frecuencia	~ 0,00
Duración	1,64295 E -7
Número de espigas	0,00000171663

Fig. 5.11 A) Representación de la variación de las características intrínsecas de las ráfagas en función del estímulo presente. Se observa un aumento del número de espigas y duración de la ráfaga ante el estímulo novedoso. Sin embargo, cuando aparecen los distractores, la frecuencia intrínseca de las ráfagas aumenta. B) Tabla de p valores para el análisis de cada una de las variables estudiadas (Test Kolmogorov-Smirnov).

C. INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE LA RESPUESTA EN RÁFAGA DE BAJO UMBRAL

Una vez observado que existen diferencias tanto en el número de ráfagas como en su distribución y características intrínsecas en función del estímulo presente, se planteó la cuestión de si estas diferencias podrían tener un componente relacionado con el grado de novedad del estímulo. De ser así, a medida que el primate aprende la tarea y se va acostumbrando a la resolución de la misma, podría haber variaciones en los valores de número de ráfagas y/o distribución de probabilidad de las mismas, ya que el estímulo diferente va perdiendo paulatinamente su carácter novedoso frente a los distractores, pudiendo este hecho verse reflejado en alguna (o varias) de las características previamente analizadas.

Por ello, se comparó el número de ráfagas en los primeros ensayos de cada registro con el número de ráfagas en los ensayos finales. Se dividió cada registro en tres partes equivalentes, en función del número de ensayos en cada registro de forma individual, y se compararon el primer y último tercio.

El resultado del análisis para esta primera tarea (Fig. 5.12) muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el número de espigas en los ensayos iniciales y los finales (test chi cuadrado; p valor: 0,606971), aunque sí se observa en los resultados una tendencia a la disminución en el número de espigas en ráfaga entre ambos.

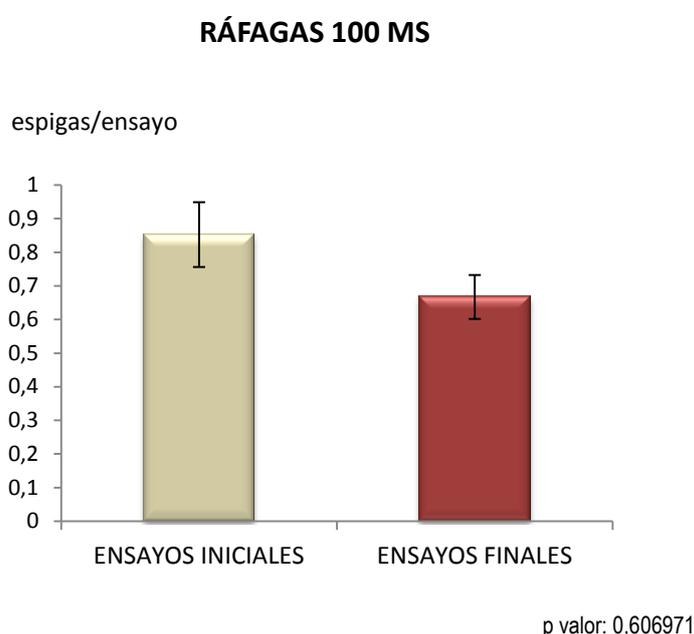


Fig. 5.12 Comparación del número de espigas en ráfaga entre los ensayos iniciales y los finales para 50 células, 42 parvocelulares y 8 magnocelulares. Para cada registro, se compararon los ensayos en el primer tercio del registro con los ensayos en el último tercio, calculando los intervalos a analizar en función de la duración total de cada registro. El número de espigas en los primeros ensayos es superior al número de espigas de los ensayos finales, aunque las diferencias entre ambos valores no son estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,606971)

Por este motivo, y dado que la longitud de los registros analizados es muy diversa, se realizó el mismo análisis clasificando los registros en función de su duración, separando los registros más largos (~60 ensayos) de los más cortos (~30), para analizar si el hecho de que las diferencias no fuesen estadísticamente significativas era causa de esta variabilidad, y por tanto, de la necesidad de una longitud mínima de registro (lo que se traduce en un número concreto de ensayos realizados) para poder observar un efecto de la novedad sobre la respuesta visual.

Los resultados obtenidos (Fig. 5.13) muestran que cuando los registros son lo suficientemente largos (en este caso, número de ensayos ~60), el número de espigas en ráfaga disminuye a medida que transcurre la tarea, y que además existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores para el número de espigas en ráfaga entre los ensayos iniciales y finales (test chi cuadrado; p valor: 0,02).

Estos resultados indican una influencia de la novedad sobre la generación de ráfagas, que se traduce en una disminución del número de espigas en ráfaga a medida que transcurre la tarea, y se manifiesta siempre y cuando el registro tenga una longitud mínima adecuada.

REGISTROS LARGOS

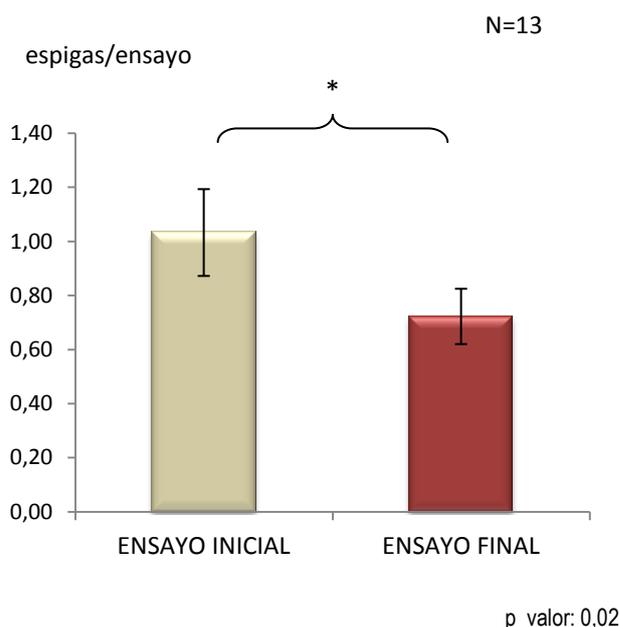


Fig. 5.13 Comparación del número de espigas para los ensayos iniciales y finales en los registros de larga duración (~ 60 ensayos). Se representa el número de espigas por ensayo, mostrándose que el número de espigas es menor en los ensayos finales frente a los iniciales, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los resultados (test chi cuadrado; p valor 0,02). En el caso de los registros cortos, con unos 30/35 ensayos, no hay diferencias entre el número de espigas para los ensayos iniciales y finales (test chi cuadrado; p valor 0,98), por lo que los siguientes análisis se centraran en registros con un mínimo de 55 ensayos.

5.3.2 TAREA VISUAL 2

Se analizó la respuesta en ráfaga para 46 células (Fig. 5.14 y siguientes), 38 de las cuales eran de tipo parvocelular y 8 de tipo magnocelular, en ambos monos, en el intervalo de 100 ms inmediatamente posterior a la aparición del estímulo, sin existir diferencias significativas en los análisis de los distintos tipos celulares.

Esta segunda tarea se planteó en base a los resultados observados en la tarea 1, y como análisis complementario a ésta, siendo una tarea mucho más corta y sencilla. El primate debe indicar con un movimiento sacádico la posición de una figura que aparecía en series de 10 repeticiones en diversas posiciones en la pantalla, intercalando la aparición de figuras diferentes o novedosas entre dichas series, y analizando las diferencias en la respuesta celular entre la respuesta ante la aparición de los distractores y del estímulo visual novedoso.

A continuación se muestra la respuesta promedio tónica y en ráfagas de las 46 células que constituyen la muestra, observándose una respuesta semejante a la obtenida en el análisis de la tarea 1.

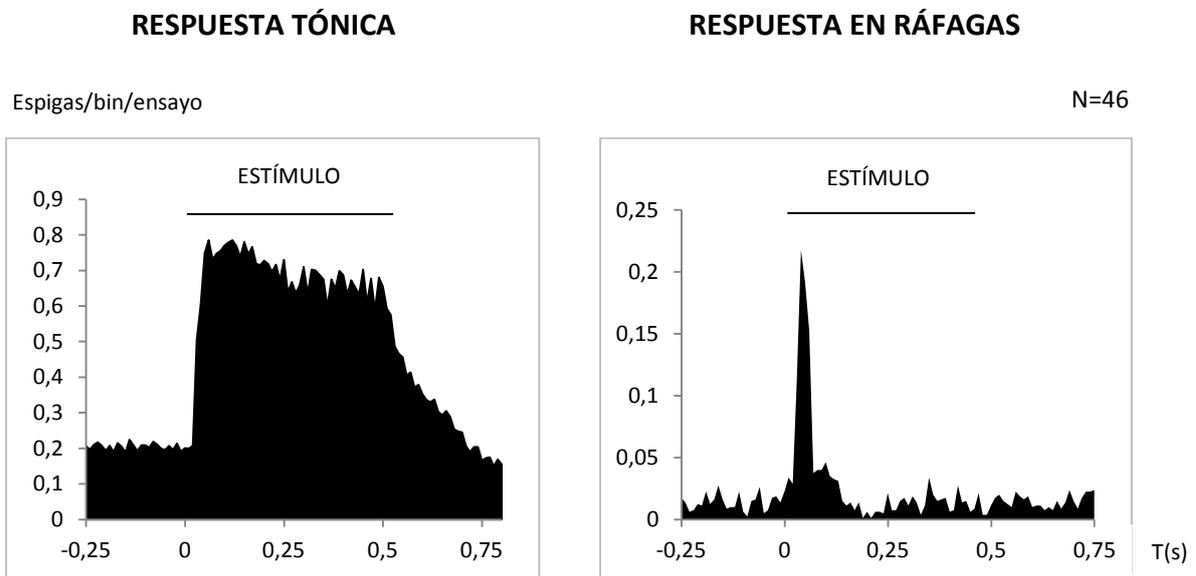


Fig. 5.14 Representación de la respuesta celular ante un estímulo visual para una muestra de 46 células de tipo parvocelular (n=38) y magnocelular (n=8), mostrando la repuesta tónica y en ráfaga por separado. Los resultados se muestran en espigas/bin/ensayo (bin=10 ms). Se observa que la respuesta tónica se mantiene durante toda la presencia del estímulo mientras que las ráfagas se generan inmediatamente tras la aparición del estímulo, desapareciendo trascurridos 100 ms.

A. ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS EN RÁFAGA Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD

El análisis del número de espigas para la muestra de 46 células en los 100 primeros ms (Fig. 5.15A), mostró un mayor número de ráfagas cuando el estímulo es el diferente frente a las existentes cuando el estímulo es el repetido, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,0160913). Se muestran también los resultados para una única célula de tipo parvocelular (célula 4-F2; Fig. 5.15B), que tiene un comportamiento idéntico al observado en el total de la muestra analizada, siendo las diferencias entre el número de espigas ante ambos estímulos significativa (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,0028086).

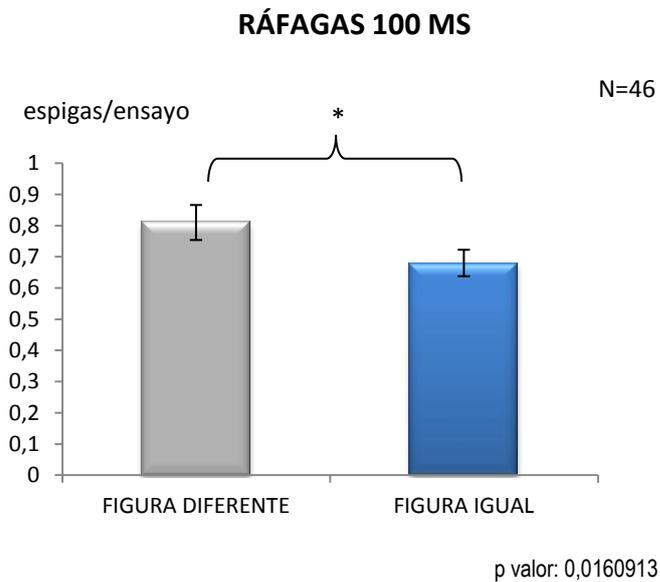
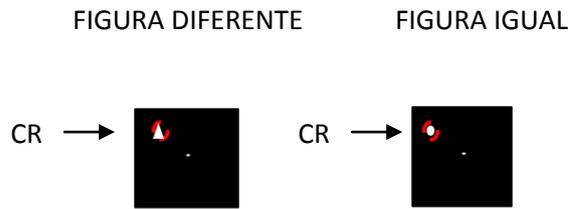


Fig 5.15 A) Para 46 células (38 parvo y 8 magno), se representa número de espigas en ráfagas por ensayo realizado en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo sobre el campo receptor celular, comparando la respuesta en función de si el estímulo presente sobre el campo receptor celular era el igual o el diferente. Se observa un mayor número de espigas en ráfagas cuando el estímulo mostrado es el diferente, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos valores (test chi cuadrado; p valor: 0,0160913)

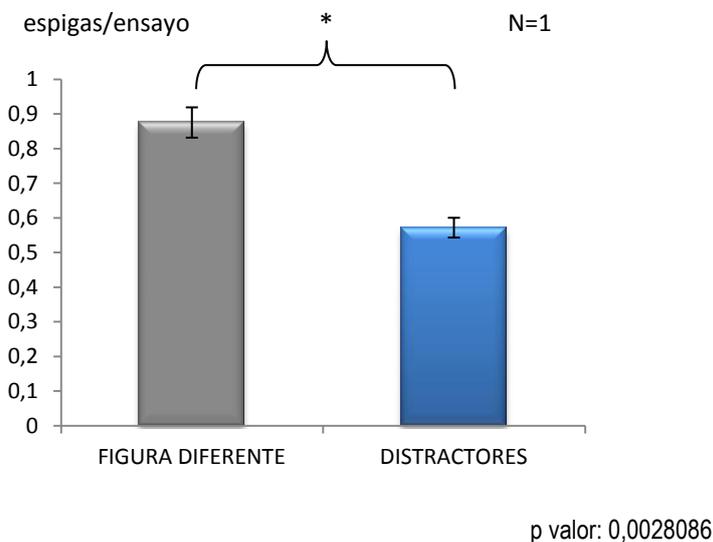


Fig. 5.15 B) Ejemplo de la respuesta en ráfaga para los dos tipos de estímulos, en el caso de una sólo célula (Cél 4-F2), obteniéndose idénticos resultados (test chi cuadrado; p valor: 0,0028086).

Al analizar las distribuciones de densidad de probabilidad para las mismas células en 100 ms de tiempo (Fig. 5.16), también se observan diferencias en función del estímulo presente. En el análisis correspondiente a 100 ms, las ráfagas se encuentran más concentradas en el tiempo cuando la figura presente es la diferente, siendo dichas diferencias estadísticamente significativas (test Kolmogorov-Smirnov; p-valor: 0,0214224).

DISTRIBUCIÓN DE DENSIDAD DE PROBABILIDAD

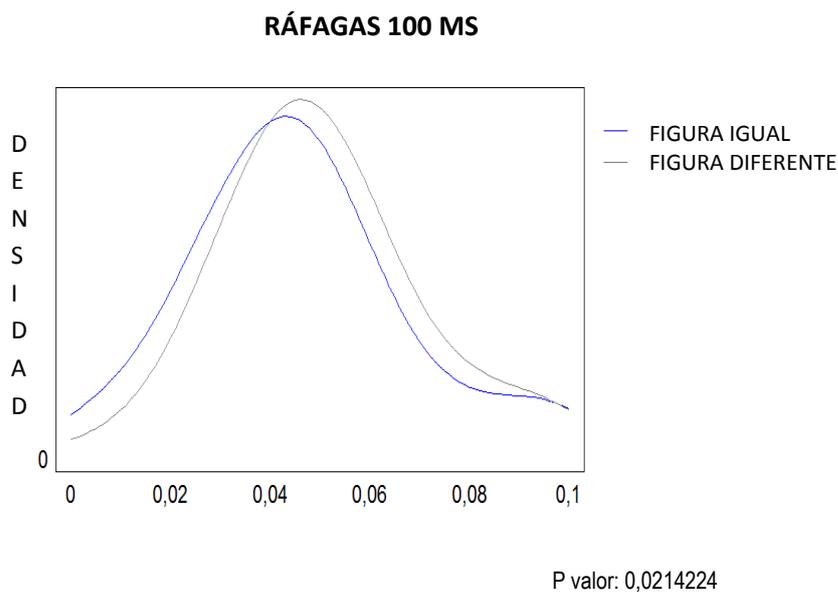


Fig. 5.16 Distribución de densidad de probabilidad para las espigas en ráfaga de 46 células, 38 parvo y 8 magno, en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo. Se compara la distribución en función del estímulo presente, existiendo diferencias en la distribución de las espigas cuando uno u otro estímulo están sobre el campo receptor celular, siendo dichas diferencias estadísticamente significativas (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,0214224).

B. ANÁLISIS CLUSTER

Para la tarea visual 2, también se realizaron los análisis cluster aplicados en el caso de la tarea 1, analizando sobre el conjunto de espigas en ráfaga el efecto de los factores frecuencia, duración y número de espigas. Los resultados obtenidos se observan en las figuras 5.17 y 5.18, análisis para la figura diferente y para la figura repetida respectivamente.

En el caso del análisis para la figura diferente, se observa la existencia de un cluster mayoritario (cluster nº1), el cual engloba aproximadamente el 71% del total de la variabilidad de espigas en ráfaga (Fig. 5.17A), con una frecuencia de 464,546 Hz, una duración de 0,0051 ms y un número medio de espigas de 2,216 (Fig. 5.17B)

También se muestra el dendrograma correspondiente constituido a partir de los distintos clusters generados (Fig. 5.17C).

Figura igual (distractores)

A. Resumen características clusters

Cluster	Miembros	Porcentaje
1	1148	83,80
2	167	12,19
3	55	4,01

B. Centroides

Cluster	Frecuencia	Duración	Nº Espigas
1	474,5	0,0056683	2,43815
2	1154,26	0,0018071	2,00599
3	8,87273	358,378	0,0252145

C. DENDROGRAMA

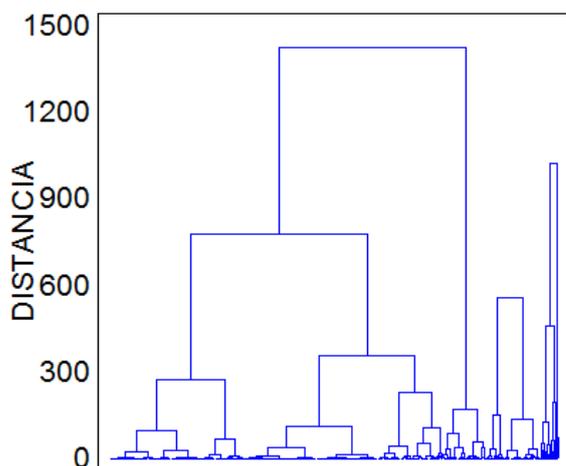


Fig. 5.17 Resumen del análisis cluster para 46 células, 38 parvo y 8 magno, analizando la frecuencia, duración y nº de espigas de sus ráfagas para la figura igual. Existe un cluster mayoritario (nº 1) que abarca el 83,80% de la variabilidad. **A)** Resumen de los cluster. **B)** Tabla de valores medios de cada una de las variables analizadas para cada cluster. **C)** Dendrograma de clusters (método Ward's, Squared Euclidean)

Figura diferente

En el caso del análisis cluster para la figura diferente o novedosa (Fig. 5.18), también nos encontramos con un cluster mayoritario que abarca casi el 80% de la población de espigas en ráfaga (Fig. 5.18A), con una frecuencia de 458,755 Hz, una duración de 0,0058 ms y un número medio de 2,45 espigas por ráfaga (Fig. 5.17B).

En la figura 5.17C, se muestra el dendrograma a partir de los cluster formados con las ráfagas.

A. Resumen características Cluster

Cluster	Miembros	Porcentaje
1	827	83,12
2	151	15,18
3	17	1,71

B. Centroides

Cluster	Frecuencia	Duración	Nº Espigas
1	451,799	0,00617427	2,55985
2	1023,25	0,0020951	2,03974
3	351,051	0,0319059	11,1765

C.

DENDROGRAMA

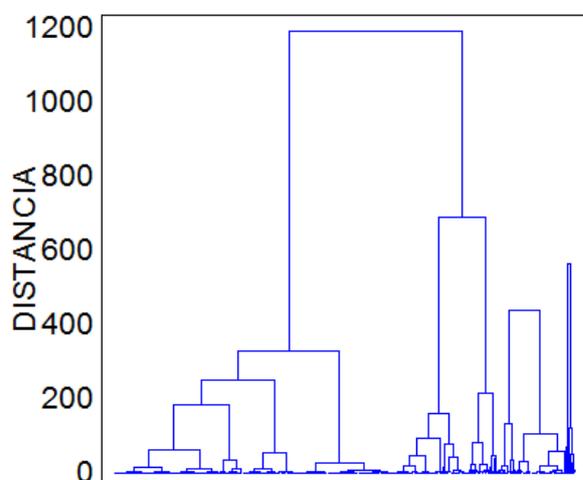


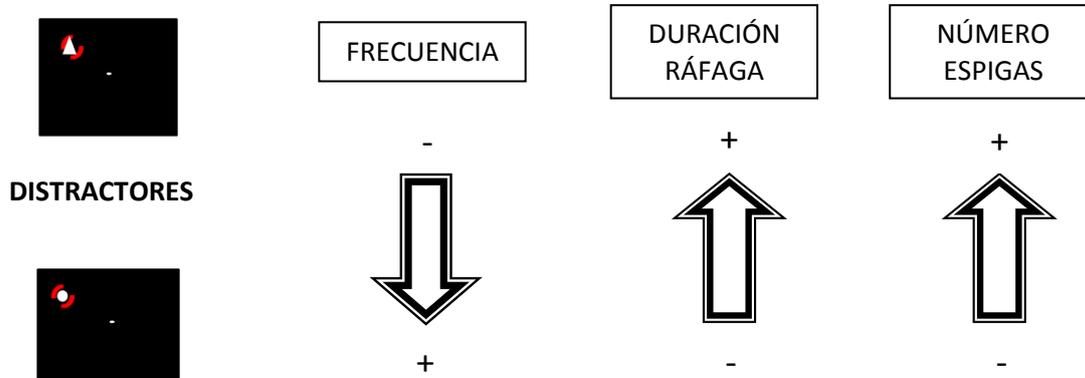
Fig. 5.17 Resumen del análisis cluster para 46 células, 38 parvo y 8 magno, analizando la frecuencia, duración y nº de espigas de sus ráfagas para la figura diferente. Existe un cluster mayoritario (nº 1) que abarca el 83,12% de la variabilidad. **A)** Resumen de los cluster. **B)** Tabla de valores medios de cada una de las variables analizadas para cada cluster. **C)** Dendrograma de clusters (método Ward's, Squared Euclidean)

Por tanto, en esta segunda tarea, se repiten los resultados obtenidos en la tarea visual 1 (Fig. 5.19A): las ráfagas de bajo umbral varían su duración y número de espigas, siendo los valores de estos parámetros mayores cuando el estímulo mostrado es el novedoso. Sin embargo, la frecuencia de la ráfaga es superior cuando aparecen los distractores. El análisis estadístico de las diferencias (test Kolmogorov-Smirnov), resultó ser significativo para los tres parámetros estudiados, como se muestra en la tabla de p valores (Fig. 5.19B).

Los resultados tras el análisis de esta segunda tarea corroboran los obtenidos en la primera tarea, indicando que las ráfagas de bajo umbral envían información concreta a la corteza sobre los estímulos presentes en el campo visual del primate, realizando un análisis o filtrado inicial de la información visual, al variar sus características intrínsecas en función de los estímulos mostrados.

A

FIGURA DIFERENTE



B

VARIABLE	P VALOR
Frecuencia	0,0165944
Duración	0,006174
Número de espigas	~ 0,00

Fig. 5.19 A) Representación de la variación de las características intrínsecas de las ráfagas en función del estímulo presente. Se observa un aumento del número de espigas y duración de la ráfaga ante el estímulo novedoso. Sin embargo, cuando aparecen los distractores, la frecuencia intrínseca de las ráfagas aumenta. **B)** Tabla de p valores para el análisis de cada una de las variables estudiadas (test Kolmogorov-Smirnov).

C. INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE LA RESPUESTA EN RÁFAGA DE BAJO UMBRAL

Al resultar esta segunda tarea más sencilla y los ensayos más cortos (en esta segunda tarea los estímulos estaban presentes 0,5 segundos previamente al movimiento sacádico mientras que en la tarea 1 permanecían en la pantalla durante 2 segundos antes de la sacada), se presupone que el efecto de la novedad sobre las ráfagas pueda acentuarse generando una disminución del número de espigas más acusada que en la tarea anterior, al requerir este segundo ejercicio menos atención y ser más tediosa en su resolución.

En la figura 5.20 se muestra la comparación del número de espigas en ráfaga por ensayo comparando los ensayos del primer tercio de cada registro y los ensayos del último tercio. El número de ráfagas es mayor en los ensayos iniciales, y disminuye a lo largo del registro mostrando valores inferiores en los ensayos finales (0,85 vs 0,67 espigas en ráfaga/ensayo inicial vs final). Sin embargo, dichas diferencias no son estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,606971).

TODOS LOS REGISTROS

RÁFAGAS 100 MS

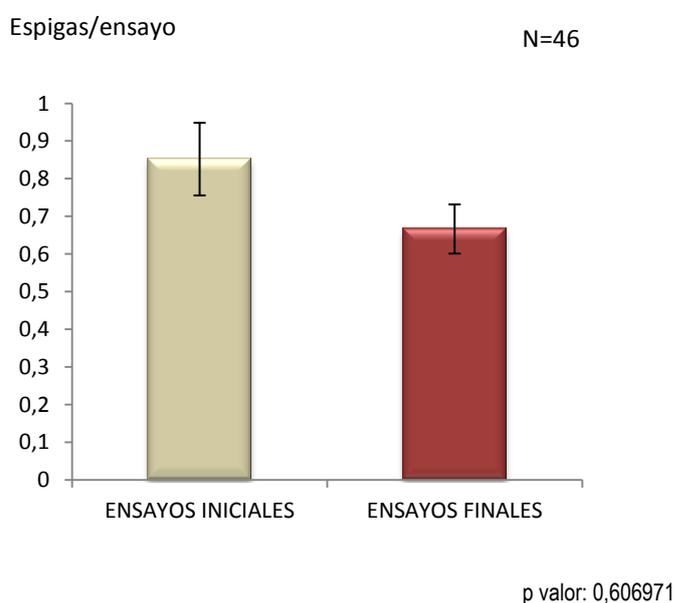


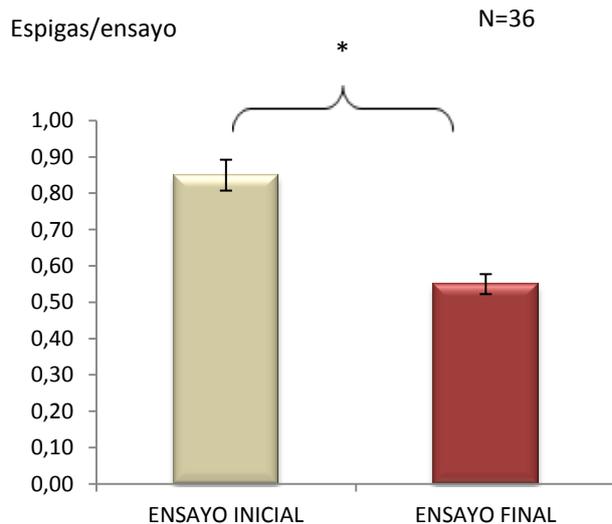
Fig. 5.20 Efecto de la habituación sobre la respuesta en ráfagas de bajo umbral. Comparación del número de espigas en ráfaga entre los ensayos iniciales y finales (primer y último tercio de cada registro) para 46 células (38 parvocelulares y 8 magnocelulares). Se observa una disminución del número de espigas en ráfaga a medida que se desarrolla la tarea, siendo estas diferencias no significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,606971)

Por ello, eliminamos del análisis los escasos registros con menos de 150 ensayos, para comprobar si, como ocurría en la tarea 1, la duración de los registros analizados era un factor clave para obtener resultados significativos en los análisis.

Los resultados mostraron de nuevo una disminución del número de espigas entre los ensayos iniciales y los ensayos finales (0,85 vs 0,55 espigas en ráfaga/ensayo), siendo las diferencias en este caso estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,0000232861), como se muestra en la figura 5.21. Estos datos corroboran los obtenidos en la tarea visual 1, reforzando la idea de una pérdida paulatina del número de espigas en ráfaga a medida que se avanza en la resolución de la tarea y los estímulos diferentes van perdiendo su carácter novedoso.

SÓLO REGISTROS CON MÁS DE 150 ENSAYOS

RÁFAGAS 100 MS



p valor: 0,0000232861

Fig. 5.21 Representación del número de espigas en los primeros ensayos frente al número de espigas en los últimos ensayos para 36 células. Se observa una clara disminución del número de espigas por ensayo a medida que transcurre la tarea, siendo dichas diferencias estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,0000232861) y explicándose el menor número de espigas en los ensayos finales como una consecuencia de la pérdida atencional durante la resolución de la tarea, a medida que el primate va habituándose a la misma.

Es importante el hecho de que el número de espigas en ráfaga en los ensayos finales al analizar únicamente los registros con más de 150 ensayos es inferior al obtenido al analizar la totalidad de los registros, lo que se traduce en una pérdida atencional (o del carácter novedoso del estímulo diferente) a medida que transcurre la tarea. Además, en este segundo análisis, volvemos a encontrar un factor determinante para poder observar el efecto atencional sobre la respuesta en ráfaga, y es la duración del registro.

En este caso, el punto de inflexión se encuentra en la realización de 150 ensayos, cifra muy superior a la necesaria para observar un efecto semejante en la tarea 1. Pero es preciso tener en cuenta que en ésta última cada ensayo tenía una duración mayor, y que la complejidad resolutive también era superior, factores a valorar para poder comparar los resultados obtenidos.

En la figura 5.22, a continuación, se representa un ejemplo de la respuesta en ráfaga para los 49 ensayos analizados en un registro de una célula (célula 32-F2), diferenciando entre los ensayos en los cuales se muestran los distractores y aquellos en los que aparece la figura novedosa. Es preciso tener en cuenta que en la tarea visual 2, sólo aparece un estímulo en diversas posiciones de la pantalla, coincidiendo una de ellas con el campo receptor de la célula que se está registrando. Por ello, aunque el registro consta de un total de 200 ensayos, tan sólo disponemos de los datos referentes a la posición que coincide con el campo receptor celular, en este caso, un total de 49 ensayos.

Se eligió esta célula como ejemplo para mostrar el efecto de la novedad sobre la respuesta celular debido a su óptima respuesta, mostrando una clara disminución del número de espigas ante la presencia de los distractores, especialmente en los ensayos finales. Sin embargo, es preciso indicar que el efecto atencional es superior al existente al analizar la respuesta media de la muestra celular.

En los ensayos iniciales, se generan ráfagas tanto ante la presencia de los distractores como ante el estímulo novedoso, ya que en estos primeros casos, todos los estímulos resultan novedosos. A medida que avanzamos en la tarea y los distractores aparecen en mayor proporción, el estímulo diferente genera más ráfagas que los distractores. Por otro lado, a medida que nos acercamos a los ensayos finales, se observa una clara disminución del número de espigas en ráfaga ante ambos tipos de estímulos como consecuencia de la pérdida atencional por habituación a la tarea visual, aunque más acusada en el caso de los distractores por aparecer con mayor frecuencia que el estímulo novedoso. En la figura 5.22, aparecen señalizados con una estrella aquellos ensayos en los cuales se muestra la figura novedosa y no se generan ráfagas.

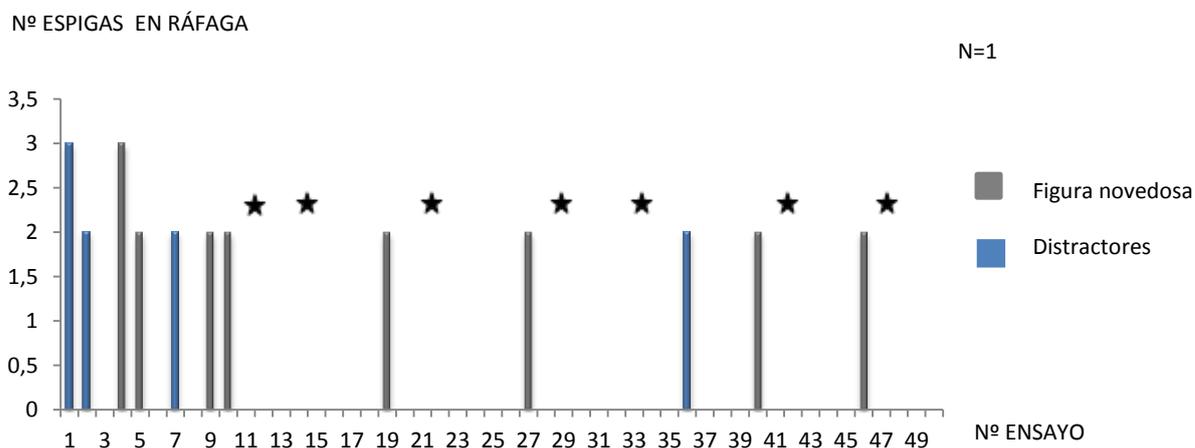


Fig. 5.22 Ejemplo de respuesta en ráfaga para una célula de tipo parvocelular (célula 32-F2), mostrando el número de espigas en ráfaga por ensayo realizado, diferenciando entre distractores y estímulo novedoso. Se observa que se genera una mayor proporción de ráfagas en los ensayos iniciales, la cual disminuye a medida que avanzamos en el registro, y que en los ensayos finales, existe un menor número de espigas en ráfaga, incluso ante la figura novedosa, como resultado de la pérdida atencional ante la tarea visual por habituación a la misma. Se marca con una estrella los ensayos en los que se muestra la figura novedosa y no se generan ráfagas de bajo umbral.

Si analizamos la respuesta en ráfaga para cada tipo de estímulo por separado (Fig. 5.23 y Fig. 5.24), observando la respuesta inicial y final para los distractores y la figura novedosa, en el caso de ésta última, obtenemos valores del número de espigas en ráfaga muy superiores en los ensayos iniciales, disminuyendo abruptamente en los ensayos finales (Fig. 5.23A). Sin embargo, en el caso de los distractores (Fig. 5.23B), la disminución del número de espigas entre los ensayos iniciales y finales es menos, de 0,59 a 0,51 espigas por ensayo.

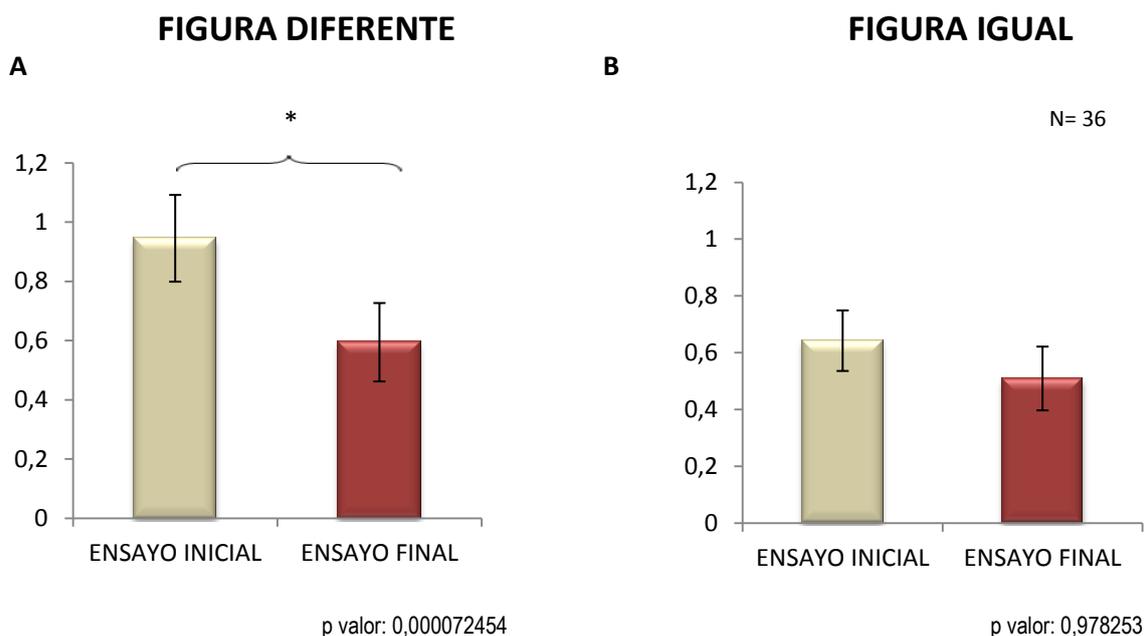


Fig. 5.23 Comparación de las ráfagas generadas en los ensayos iniciales y en los ensayos finales, para la figura diferente y la figura igual, de forma independiente. A) Figura diferente. El número de espigas en ráfaga es muy superior en los ensayos iniciales, disminuyendo de forma importante en los finales. Las diferencias entre ambos tipos de ensayos son significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,000072454) B) Figura igual. No existen diferencias entre el número de espigas en ráfaga entre los ensayos iniciales y finales (test chi cuadrado; p valor: 0,978253)

Interesante es el hecho de que el número de ráfagas generadas por el estímulo diferente en los ensayos iniciales (0,945 espigas/ensayo) es muy superior al generado por la figura igual (0,6 espigas/ensayo) (Fig 5.24A). Ambos valores disminuyen en los ensayos finales (Fig. 5.24B), y, aunque existe una ligera tendencia a que el número de espigas por ráfaga sea superior ante la figura novedosa, (0,59 vs 0,51 espigas por ensayo figura novedosa vs distractores), dichas diferencias no son significativas.

Por tanto, de estos resultados se obtienen dos conclusiones principales: el número de ráfagas generadas por la figura diferente es mayor que el número de ráfagas generadas por los distractores, tanto en los ensayos iniciales como en los finales, y la caída en el número de espigas en ráfaga es más pronunciada en el caso de la figura diferente (36% de disminución de respuesta frente a un 25% en el caso de los distractores).

De hecho, el número de espigas en ráfaga para la figura diferente en los ensayos finales (Fig. 5.24B), no presenta diferencias estadísticas con el valor obtenido en el caso de los distractores, lo que indica que la figura distinta ha perdido su carácter novedoso respecto a las figuras repetidas y que no se observan diferencias atencionales o causados por la novedad, entre ambos estímulos.

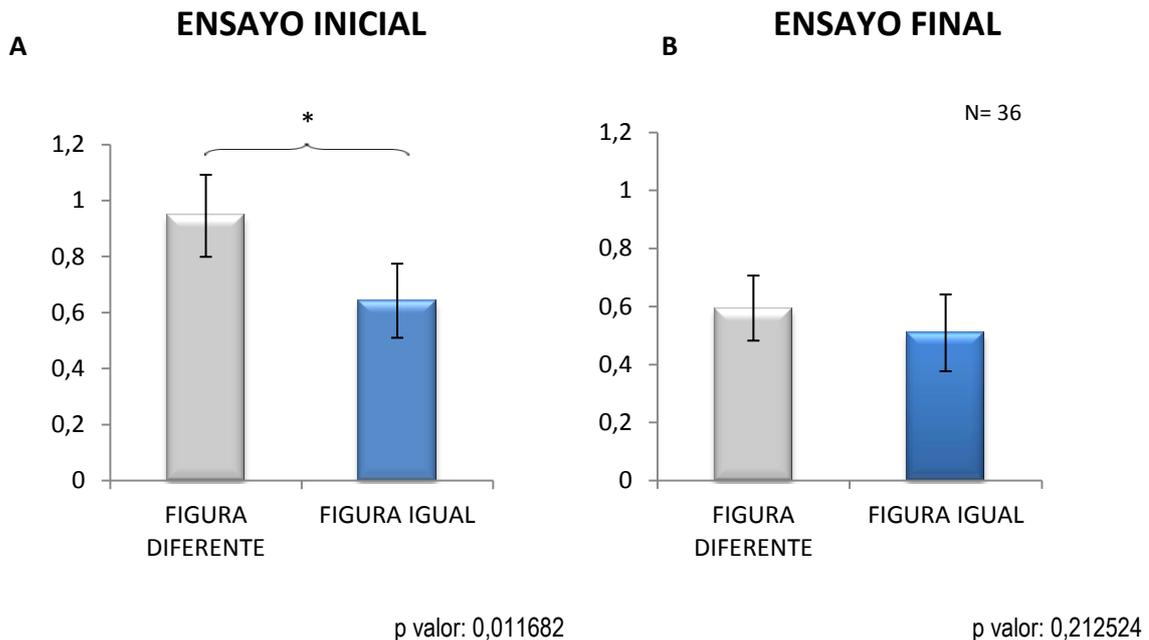


Fig. 5.24 Comparación de las ráfagas generadas en los ensayos iniciales y en los ensayos finales por cada tipo de estímulo. **A)** Ensayos iniciales. Diferencias estadísticamente significativas entre el número de espigas en ráfaga generadas en presencia del estímulo igual y del diferente (test chi cuadrado; p valor: 0,011682). **B)** Ensayos finales. El número de ráfagas disminuye tanto para la figura igual como para la diferente respecto al generado durante los ensayos iniciales, siendo dicha disminución mucho más acusada en el caso de la figura diferente. Las diferencias no son significativas en este caso (test chi cuadrado; p valor 0,212524)

5.4 RESPUESTA TÓNICA: FUNCIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN VISUAL

Una vez analizados los patrones de respuesta para las espigas en ráfaga, se procede a analizar la respuesta tónica, para observar si estas espigas se comportan de una manera distinta a las ráfagas ante la presencia de diferentes estímulos, constituyendo un patrón de disparo característico y propio, o por el contrario muestran una respuesta similar a la observada para las espigas en ráfaga. Partimos de la base de la existencia de ciertas diferencias, ya que las espigas tónicas aparecen posteriormente a la respuesta en ráfaga, manteniéndose durante toda la presencia del estímulo.

Se analizan tanto el número de espigas tónicas por ensayo para los distractores y la figura diferente, como la distribución de probabilidad para ambas tareas independientemente, al igual que en el caso de las ráfagas.

A. ANÁLISIS DEL NÚMERO DE ESPIGAS TÓNICAS Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDAD

Para realizar los histogramas representando la respuesta tónica para la figura igual y para la figura diferente, dado que la proporción de ensayos es 3:1 distractor/estímulo novedoso, se normalizaron los datos en espigas/bin/ensayo, al igual que con las ráfagas de bajo umbral.

Al analizar la respuesta tónica ante ambos estímulos (Fig. 5.25), inicialmente no existen diferencias en la respuesta para figura novedosa y distractores (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,402826), y de hecho las gráficas resultantes son muy semejantes a simple vista, como se puede apreciar también en la ampliación del pico máximo de respuesta, en la gráfica a continuación.

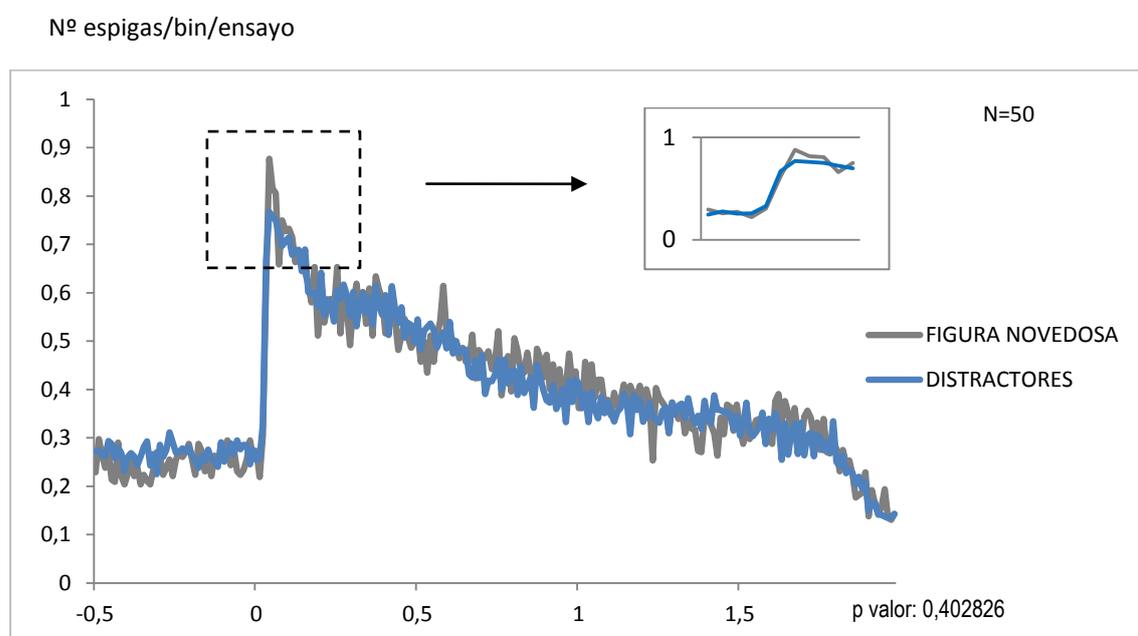


Fig. 5.25 Histograma de la respuesta tónica para 50 células, normalizado en espigas/bin/ensayo (bin=10 ms), representando la respuesta en función del estímulo. En azul, respuesta ante la figura diferente (estímulo novedoso) y en gris para los distractores. No existen diferencias en la respuesta tónica ante ambos tipos de estímulos (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,402826). Se muestra ampliado el pico máximo de respuesta, dónde se encuentran las diferencias más acusadas entre las respuestas para ambas figuras.

Sin embargo, podrían existir ciertas diferencias en el número de espigas o la distribución de las mismas enmascaradas por el tipo de análisis realizado o restringidas a un intervalo de tiempo concreto de la respuesta. Por ello, se analizaron dos intervalos de tiempo tras la aparición del estímulo visual: 100 ms para comparar la respuesta con la de las ráfagas y observar el comportamiento de la respuesta tónica en este intervalo inmediatamente posterior a la aparición del

estímulo, y 500 ms porque este intervalo concentra casi el 40% del total de espigas (máximo pico de respuesta) y en los análisis preliminares inicialmente realizados determinaban que este intervalo era el que presentaba mayores diferencias en función del estímulo mostrado.

Los resultados se presentan de forma independiente para ambas tareas visuales.

Tarea visual 1

Se analizó la respuesta tónica obtenida para un conjunto de 50 células, 42 de ellas de tipo parvocelular y 8 de tipo magnocelular, en dos intervalos de tiempo tras la aparición del estímulo: 100 ms y 500 ms.

El intervalo correspondiente a 100 ms (Fig. 5.26A), muestra que el número de espigas por ensayo es superior en el caso de la figura diferente (6,23 espigas/ensayo frente a 5,25 espigas/ensayo para la figura igual), sin existir diferencias estadísticamente significativas en los resultados (test chi cuadrado; p valor: 0,417302), las cuales tampoco existen en el caso de la distribución de probabilidad (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,25836) (Fig. 5.26B)

El análisis del intervalo de 500 ms tras la aparición del estímulo muestra resultados semejantes en cuanto al número de espigas por ensayo, con tendencia a la existencia de un mayor número de espigas ante la figura diferente, sin presentar significancia estadística (test chi cuadrado; p valor: 0,144292) (Fig. 5.27A). La distribución de densidad de probabilidad para este intervalo de tiempo tampoco presenta diferencias (Fig. 5.27B) en función del estímulo visual presente (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,120668).

Por tanto, en esta primera tarea la respuesta tónica no varía, ni en número de espigas por ensayo ni en su distribución de probabilidad en función de la figura presente sobre el campo receptor de la célula registrada, corroborándose las diferencias entre espigas tónicas y ráfagas que presuponíamos existirían debido a las diferentes funciones que cada tipo de respuesta desempeña en el procesamiento de la información visual.

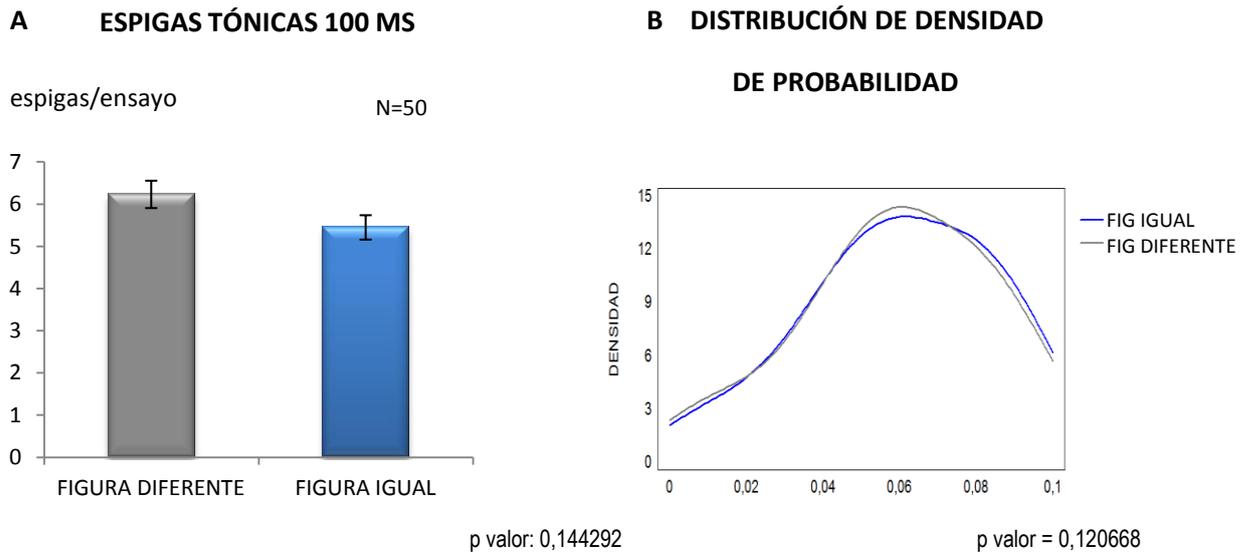


Fig. 5.26 Comparación del número de espigas tónicas en una muestra 50 células parvocelulares (N=42) y magnocelulares (N=8). **A)** Número de espigas por ensayo para figura igual y figura diferente. El número de espigas es ligeramente superior para la figura diferente pero sin existir diferencias estadísticamente significativas (test chi cuadrado; p valor: 0,144292). **B)** Distribución de densidad de probabilidad para figura igual y figura diferente. No existen diferencias estadísticamente significativas entre ambas distribuciones para un tiempo de 100 ms tras la aparición del estímulo (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,120668).

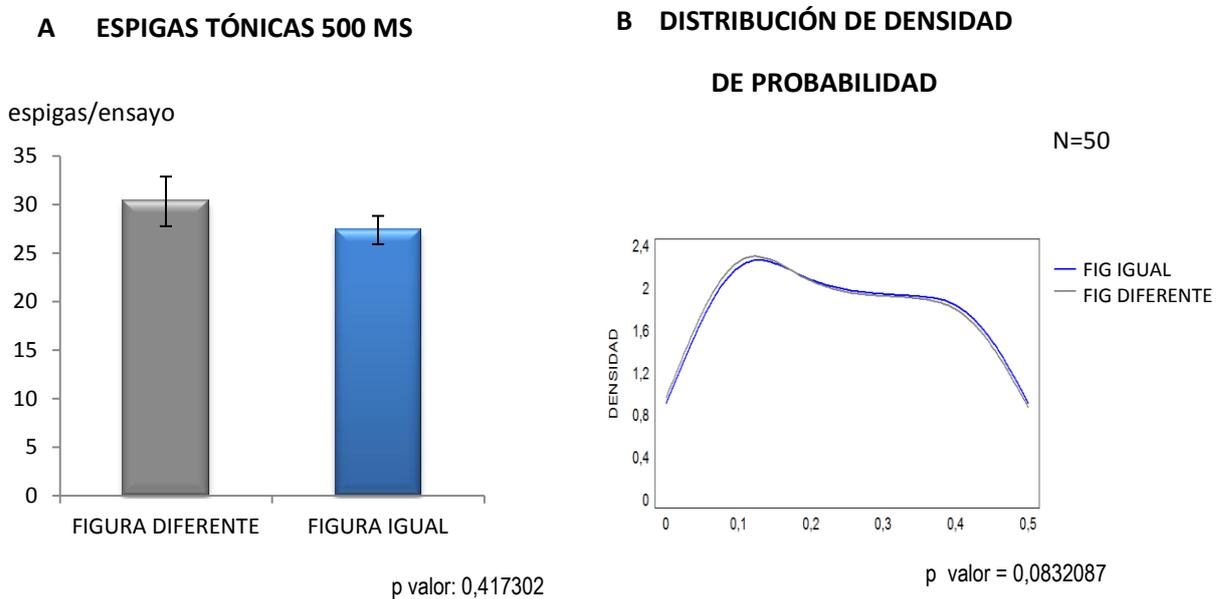


Fig. 5.27 Comparación del número de espigas tónicas en una muestra 50 células de tipo parvocelular y magnocelular en el intervalo de tiempo de 500 ms tras la aparición del estímulo visual. **A)** Número de espigas por ensayo para figura igual y figura diferente. El número de espigas es superior para la figura diferente pero sin presentar diferencias estadísticamente significativas (test Chi cuadrado; p valor: 0.417302). **B)** Distribución de densidad de probabilidad para figura igual y figura diferente. Tampoco existen diferencias estadísticamente significativas entre la distribución para la figura igual y para la figura diferente (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0.0832087).

Tarea visual 2

En el caso de esta segunda tarea, los análisis se realizaron sobre una muestra de 46 células, siendo 38 de las mismas de tipo parvocelular y las restantes 8 de tipo magnocelular.

En esta segunda tarea, los resultados son semejantes a los obtenidos en la primera tarea: el número de espigas por ensayo en el caso del intervalo de 100 ms (Fig. 5.28A) es igual para ambos estímulos visuales, sin existir diferencias estadísticas (test Chi cuadrado; p valor: 0,292465). Lo mismo ocurre en el caso de la distribución de probabilidad (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,25836) (Fig. 5.28B).

El análisis del intervalo de 500 ms (Fig. 5.29) tampoco muestra diferencias entre el número de espigas para cada tipo de estímulo visual (25,0078 y 24,6796 espigas/ensayo para la figura diferente y la figura igual respectivamente). La distribución de probabilidad tampoco muestra ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la respuesta ante ambos estímulos (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,288452).

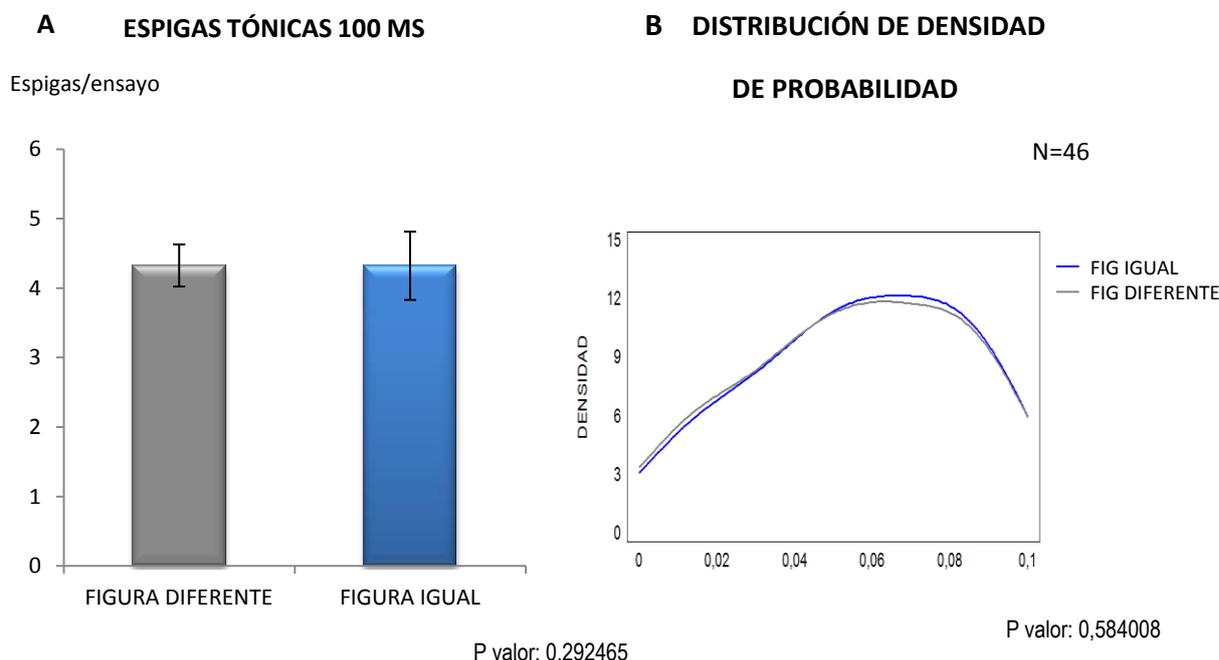


Fig. 5.28 Comparación del número de espigas tónicas en una muestra 46 células de tipo parvocelular y magnocelular. **A)** Número de espigas por ensayo para figura igual y figura diferente. El número de espigas es ligeramente superior para la figura diferente, pero sin existir diferencias estadísticamente significativas (test Chi cuadrado; p valor: 0,292465). **B)** Distribución de densidad de probabilidad para figura igual y figura diferente. No existen diferencias estadísticamente significativas entre ambas distribuciones para un periodo de tiempo de 100 ms tras la aparición del estímulo (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,584008)

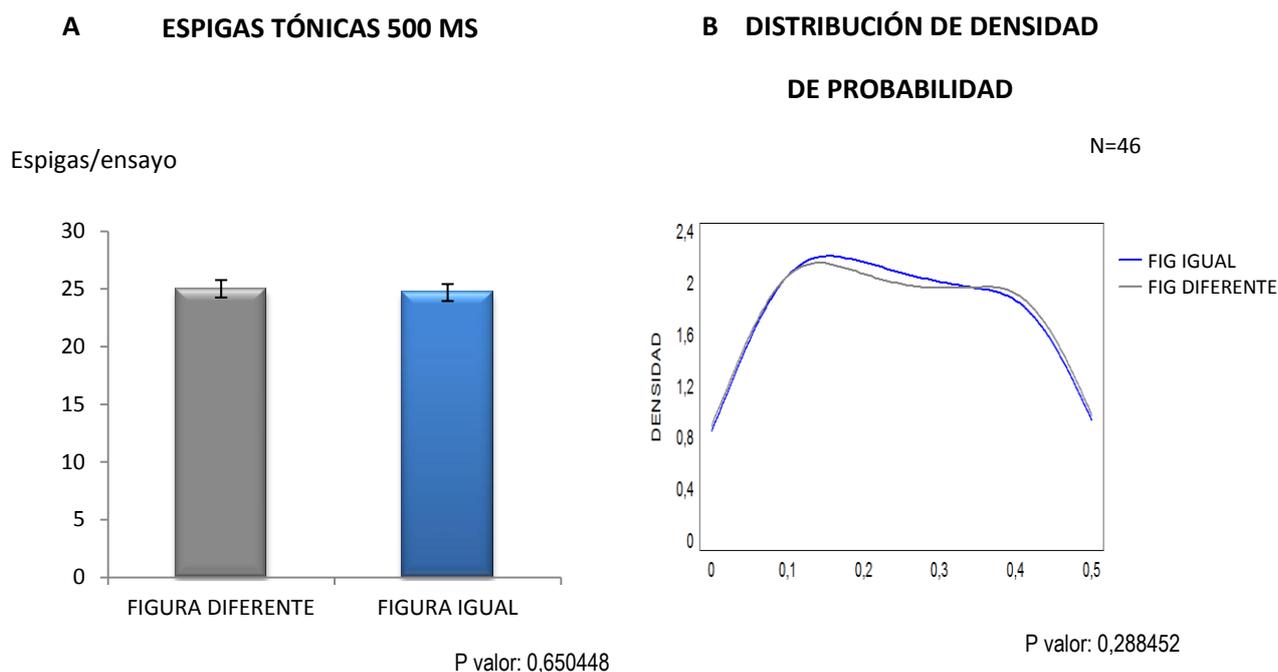


Fig. 5.29 Comparación del número de espigas tónicas en una muestra 46 células de tipo parvocelular y magnocelular en el intervalo de tiempo de 500 ms tras la aparición del estímulo visual. **A)** Número de espigas por ensayo para figura igual y figura diferente. El número de espigas es superior para la figura diferente pero sin presentar diferencias estadísticamente significativas (test Chi cuadrado; p valor: 0,650448). **B)** Distribución de densidad de probabilidad para figura igual y figura diferente. Tampoco existen diferencias estadísticamente significativas entre las distribuciones para los distintos estímulos (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,288452)

Por tanto, los resultados de ambas tareas coinciden, mostrando que la respuesta tónica no varía ni en número de espigas por ensayo ni en su distribución de probabilidad en función del estímulo mostrado (figura diferente/distractores). Este hecho determina que la respuesta tónica transmite a la corteza información visual diferente a la codificada por las ráfagas, probablemente analizando de forma detallada las características de los estímulos, o acerca de aquellos cambios que se producen progresiva o gradualmente en los mismos, como variaciones en el contraste, luminosidad, etc.

B. INFLUENCIA DE LA NOVEDAD SOBRE EL DISPARO TÓNICO

En vista de los resultados obtenidos en los análisis previos, no se esperaba encontrar en el disparo tónico una reducción de la respuesta debido a un efecto relacionado con la novedad del estímulo semejante al observado en las ráfagas, por lo que los análisis se realizaron únicamente en la tarea 2, más apropiada para tal fin.

Tal y como se determinó con anterioridad, se utilizaron únicamente los registros previamente determinados como “largos”, con un mínimo de 150 ensayos.

A pesar de que el número de espigas tónicas es mayor en los ensayos iniciales frente al existente en los ensayos finales para ambos estímulos (Fig.5.30), existen dos diferencias con la respuesta en ráfaga:

Por un lado, la disminución del número de espigas tónicas es menor, siendo ésta de un 15% frente al aproximadamente 30% de disminución media en la caída de la respuesta en ráfaga.

Además, esta disminución de la respuesta en ráfaga resultaba ser superior en el caso del estímulo novedoso (36%) frente a la observada en los distractores (25%), mientras que en el disparo tónico la caída de respuesta es equivalente para ambos estímulos (~15%). En ningún caso existen diferencias significativas para dicha caída en la respuesta (Figura igual: test chi cuadrado; p valor: 0,4765140; Figura diferente: test chi cuadrado; p valor: 0,565439), lo que sugiere que el efecto observado es principalmente debido a la habituación del animal a la tarea y a la pérdida general de atención hacia la misma, y no atribuible a una diferencia en la “novedad” del estímulo mostrado.

Los resultados obtenidos denotan claras diferencias en el comportamiento de las espigas tónicas frente al mostrado por las ráfagas, determinándose que la novedad afecta en mayor medida a la respuesta en ráfaga frente al efecto sobre el disparo tónico, indicio nuevamente de que las funciones de ambos tipos de respuesta son distintas.

Tarea visual 2 (Registros de más de 150 ensayos)

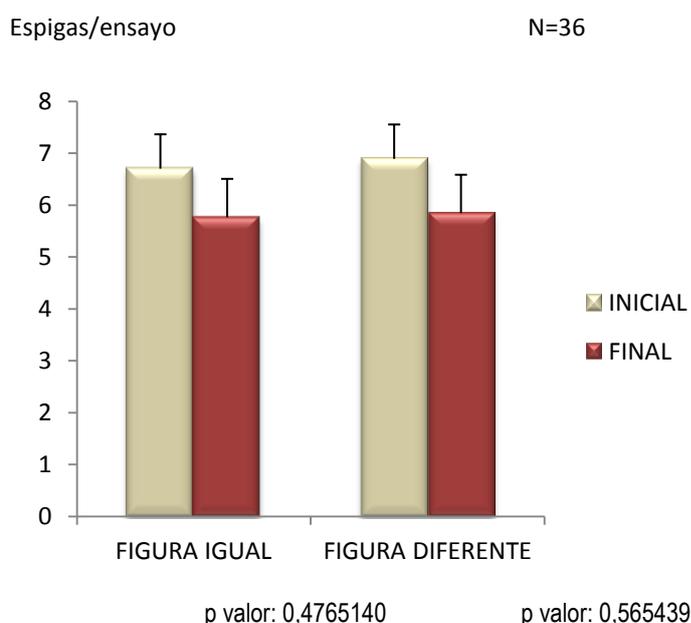


Fig. 5.30 Representación del número de espigas tónicas para los 100 ms posteriores a la aparición del estímulo en los ensayos iniciales y finales de 46 células de tipo parvocelular y magnocelular, realizado de forma independiente para las figuras igual y diferente. Se analizó el resultado obtenido en la tarea 2, utilizando únicamente los registros con más de 150 ensayos (largos). Ante ambos estímulos, el número de espigas disminuye en los ensayos finales respecto al número existente en los ensayos iniciales, sin existir diferencias estadísticamente significativas para dicho descenso en ningún caso. (Figura igual: test chi cuadrado; p valor 0,4765140; Figura diferente: test chi cuadrado; p valor: 0,565439).

5.5 ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL (EMT)

El protocolo de experimentación utilizado para la aplicación de la EMT consta de tres registros: un registro previo a la aplicación de la EMT (registro control) para establecer una actividad neuronal inicial en condiciones normales, aplicación de la EMT durante 4 minutos sobre V1 (a una frecuencia de 0,8 Hz al 60% de la capacidad de salida del equipo), un segundo registro inmediatamente posterior a la finalización de la aplicación de la EMT (registro post-EMT) con una duración aproximada de 4 minutos (tiempo aproximado de duración del efecto óptimo de la EMT), una pausa de 10 minutos para permitir la recuperación total de la actividad neuronal inicial, y un último registro (4-5 minutos) para observar la actividad una vez desaparecido el efecto de la EMT.

Durante el protocolo de experimentación, en todos los registros, el primate se encuentra realizando la tarea visual 1, la cual consiste en diferenciar de entre cuatro figuras geométricas, la única diferente de las otras tres. En el intervalo de 4 minutos en el cual se aplican los pulsos de EMT, el primate no ha de realizar ninguna tarea.

5.5.1 EFECTO DE LA EMT SOBRE LA ACTIVIDAD NEURONAL

Estudios previos, tanto en humanos (Chen et al., 1997; Kosslyn et al., 1999; Bolognini et al., 2009b) como en modelos animales como el gato (de Labra et al., 2007; Espinosa et al., 2007, 2011), indicaban que la aplicación de EMT a bajas frecuencias (<1 Hz) sobre V1 durante intervalos de tiempo de varios minutos (variables en función de otros parámetros como el tipo de bobina, la frecuencia de estimulación, etc) generaba un efecto inhibitor reversible de la actividad cortical. En nuestros resultados, para una muestra de 8 células, 2 de tipo magnocelular y 6 de tipo parvocelular, existe una caída significativa de la respuesta visual, tanto durante la actividad espontánea (tiempo previo a la aparición del estímulo) como durante la actividad visual evocada (Fig. 5.31). El porcentaje de disminución de la respuesta visual en el intervalo de tiempo en el cual se muestra el estímulo visual es de un 23,051% de media.

Además, se comprobó si el tiempo establecido como de recuperación tras la aplicación de la estimulación era suficiente y adecuado, y para ello se comparó la actividad (nº espigas/bin/ensayo, con bins de 10 ms) en los registros control y de recuperación (Fig. 5.31), sin existir diferencias estadísticamente significativas entre ambos registros (test chi cuadrado; p valor: 0,994), lo cual era indicativo de que la actividad neuronal volvía a alcanzar valores semejantes a los iniciales.

RESPUESTA CELULAR A UN ESTÍMULO VISUAL

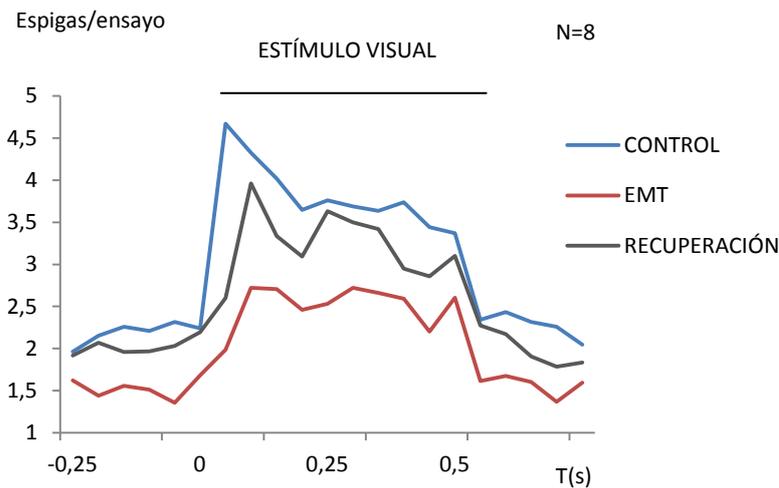
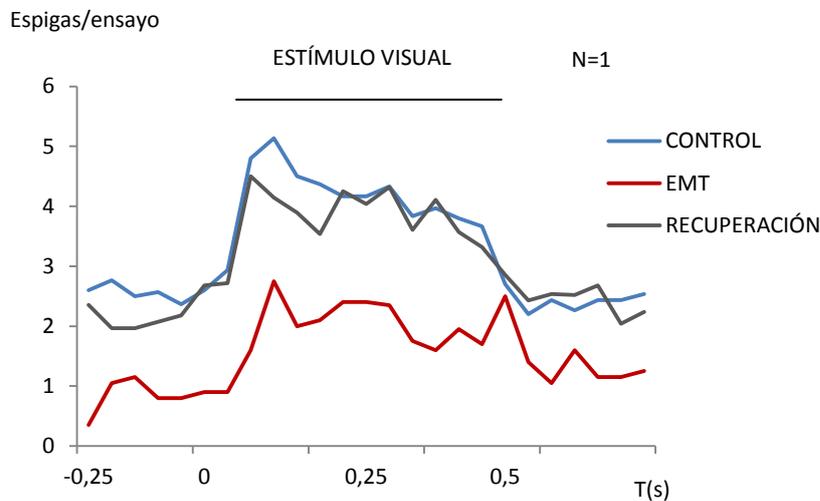
A

Fig. 5.31 A) Influencia de la EMT sobre la respuesta visual a un estímulo. En azul, se representa la respuesta visual previa a la aplicación de la EMT (control), en rojo la respuesta visual tónica inmediatamente después de la EMT (post-TMS), y en gris, la respuesta visual tónica trascurridos 10 minutos desde la aplicación de la EMT (recuperación). La actividad visual disminuye significativamente al aplicar EMT, volviendo a recuperarse la actividad inicial tras un tiempo aproximado de 10-15 minutos.

B

B) Ejemplo del efecto de la aplicación de EMT sobre la respuesta visual a un estímulo para una única célula (célula 3-F2) de la muestra.

Sin embargo, la EMT posee su efecto máximo inmediatamente después de su aplicación, por lo que podría ser que, a medida que avanzamos en el registro, se viese atenuado el efecto inhibitor sobre la respuesta celular, afectando a los resultados obtenidos. Por ello, se dividieron los registros post-EMT en dos tramos, que se analizaron por separado: los primeros 120 s de registro como intervalo inicial y de 120 a 240 s de registro como tramo final, para comprobar si había variaciones en la actividad neuronal a medida que transcurría el tiempo (Fig. 5.32).

Los resultados obtenidos muestran que la actividad en los primeros 120 segundos de registro post-EMT es ligeramente inferior a la existente en el segundo intervalo, pero no existen diferencias entre las respuestas en ambos intervalos (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,937503). Por tanto, se comprobó que el efecto de la EMT va disminuyendo paulatinamente a medida que transcurre el tiempo, pero se mantiene un efecto inhibitorio de la actividad cortical fuerte y estable durante la totalidad de los registros tras la aplicación de EMT.

EFEECTO EMT SOBRE RESPUESTA VISUAL

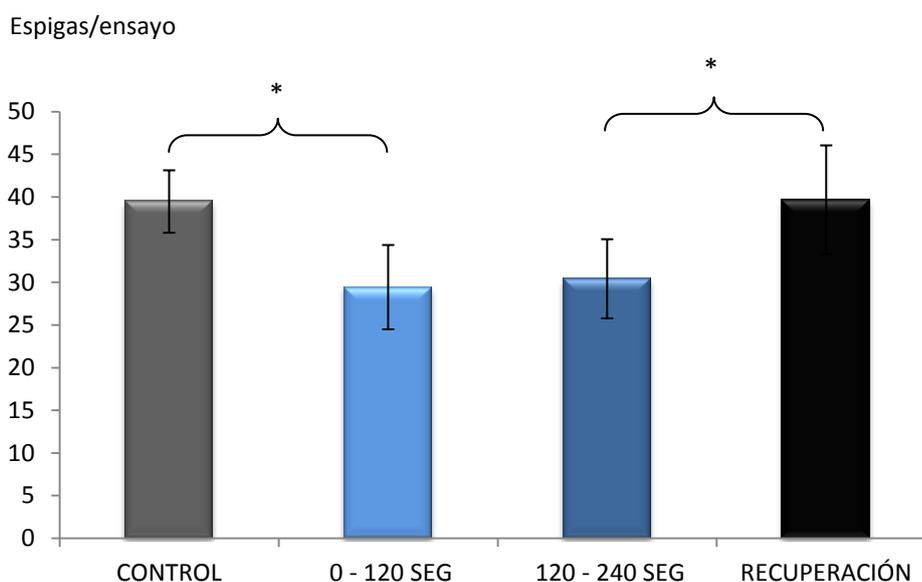


Fig. 5.32 Influencia de la EMT sobre la respuesta visual. De izquierda a derecha, en gris, respuesta visual previa a la aplicación de la EMT (control); en azul, respuesta visual inmediatamente tras la aplicación de EMT, dividiendo los registros en dos tramos de 120 segundos de duración cada uno; en negro, respuesta visual trascurridos 10 minutos desde la aplicación de la EMT (recuperación). La actividad visual disminuye al aplicar EMT, volviendo a recuperarse la actividad tras un tiempo aproximado de 10 minutos. Las diferencias entre la respuesta en el registro control y el primer tramo del registro tras la aplicación de EMT, así como entre el segundo tramo y el registro de recuperación son estadísticamente significativas (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,011682 y p valor: 0,002569, respectivamente), mientras que no existen diferencias entre las respuestas entre ambos tramos del registros tras la EMT (en la gráfica, en azul) (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,937503).

En ambos tramos del registro posterior a la aplicación de EMT (en la gráfica, en azul), la respuesta celular es claramente inferior a la existente durante los registros control y de recuperación. El tiempo de registro posterior a la EMT y el período de reposo para la recuperación de la actividad cortical parecen suficientes y adecuados.

Por otro lado, se realizó una segunda comprobación del efecto de la EMT sobre la respuesta visual, analizando el efecto del bloqueo cortical sobre los 500 ms de duración de los ensayos (tiempo en el que está presente el estímulo visual). Para ello, se dividió el tiempo de respuesta (500 ms) en 4 intervalos de 100 ms cada uno, despreciando el último por ser de duración variable (Fig. 5.33). Los resultados muestran que el mayor efecto de la EMT se produce en el primer intervalo de 100 ms tras la aparición del estímulo, donde el porcentaje de espigas disminuye casi un 40% respecto al existente en los registros control. En el resto de los intervalos, esta la caída de la respuesta es de 22%, 20% y 7% respectivamente, disminuyendo el efecto inhibitor de la EMT progresivamente a medida que transcurre el tiempo de presentación del estímulo. Estas disminuciones del número de espigas son estadísticamente significativas para todos los intervalos analizados (Test chi cuadrado; p valor 0-100 ms: 1,82E-10; p valor intervalos restantes: ~ 0,00).

Disminución del
porcentaje de espigas

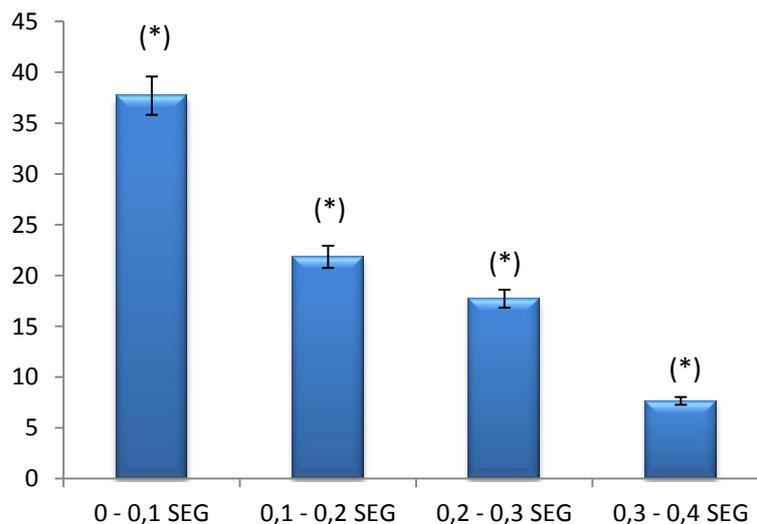


Fig. 5.33 Disminución de la repuesta visual para una muestra de 8 células talámicas inmediatamente tras la aplicación de la EMT, dividiendo esta respuesta ante un estímulo visual en intervalos de 100 ms. El intervalo más afectado es el correspondiente a los primeros 100 ms tras la aparición del estímulo, con una caída en la respuesta visual de casi un 40%. En el resto de los intervalos, la disminución del número de espigas oscila entre un 7 y un 20%. En todos los intervalos, las diferencias en el número de espigas antes y después de la aplicación de la EMT presentan diferencias estadísticas (*)

(*) El último intervalo, correspondiente a 400 – 500 ms es un intervalo de tiempo variable para los diferentes ensayos con la finalidad de que el animal no se adelante en la respuesta a la desaparición del estímulo visual, y por ello no se analiza.

5.5.2 EFECTO DE LA EMT SOBRE LAS ESPIGAS TÓNICAS Y LAS RÁFAGAS DE BAJO UMBRAL

Si analizamos la respuesta visual antes y después de la aplicación de la EMT dividiéndola en espigas tónicas y ráfagas, los resultados obtenidos son bastante diferentes. En el caso de la respuesta tónica, son prácticamente iguales a los obtenidos para la respuesta total, ya que el porcentaje de espigas disminuye en el registro inmediatamente posterior a la aplicación de la EMT un 23%, volviendo a alcanzar valores semejantes a los iniciales en la recuperación (Fig. 5.34A y B).

RESPUESTA TÓNICA

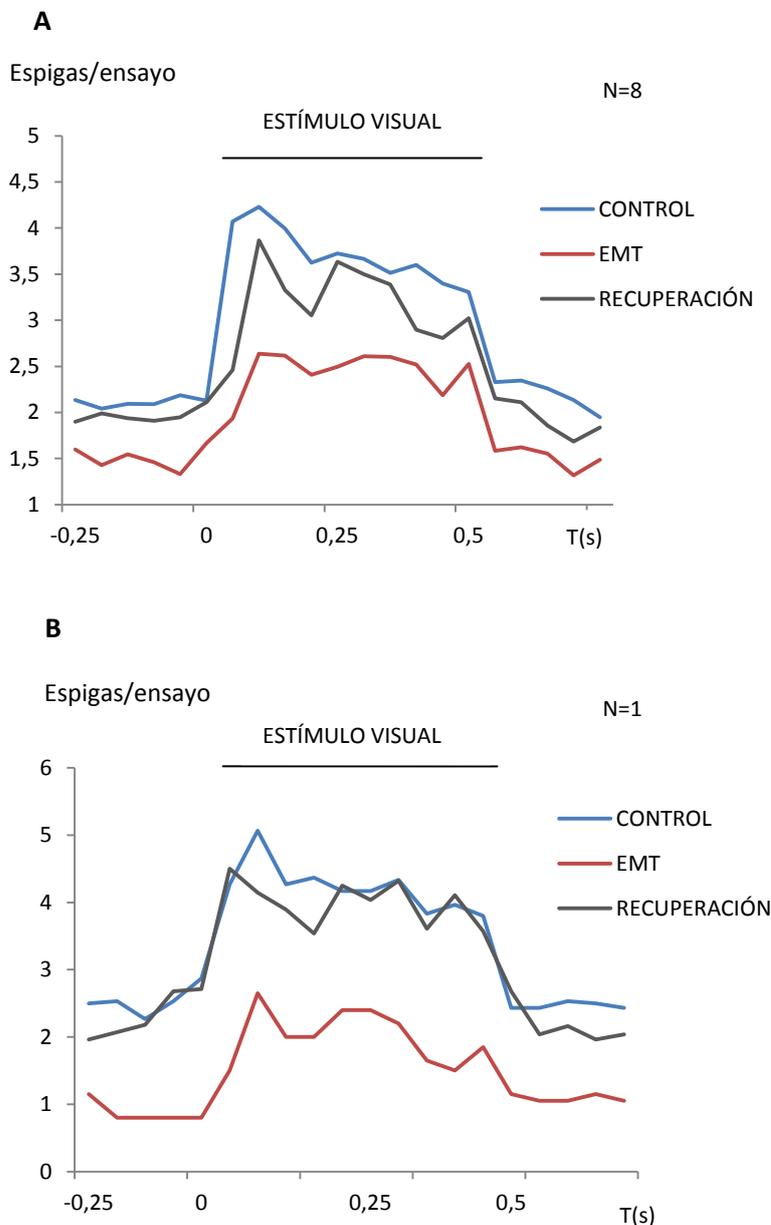


Fig. 5.34 A) Influencia de la EMT sobre la respuesta tónica para una muestra de 8 células, parvocelulares (6) y magnocelulares (2). Igual que en la gráfica anterior, se muestra la respuesta visual tónica previa a la aplicación de la EMT (control), la respuesta inmediatamente generada tras la aplicación de la EMT (post-EMT) y trascurridos 10 minutos desde la aplicación de la EMT (recuperación). La actividad visual disminuye al aplicar los pulsos de estimulación, volviendo a recuperarse la actividad inicial tras un tiempo aproximado de 10-15 minutos.

B) Misma gráfica para un ejemplo de célula parvocelular (cél 3-F2), observándose los mismos efectos que en la totalidad de la muestra.

Para la respuesta tónica, la diferencia entre el número de espigas en los registros control y los registros post-EMT es estadísticamente significativa (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: $\sim 0,00$), mientras que entre éstos últimos y los registros de recuperación, no existen dichas diferencias (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,210922). Se muestran los resultados tanto para el total de las células en la muestra (Fig. 5.34A) como para el ejemplo de una célula individual, con idénticos resultados (Fig. 5.34B).

En el caso de las ráfagas de bajo umbral, el efecto de la EMT hace disminuir de forma drástica, un 90,98%, el porcentaje de espigas en ráfaga (Fig. 5.35 y 5.36). Sin embargo, en este caso, tras el período de recuperación, la repuesta en ráfaga de bajo umbral aumenta ligeramente pero no vuelve a alcanzar los valores mostrados inicialmente (Fig. 5.35, recuperación). En el análisis de la respuesta entre los registros posteriores a la aplicación de la EMT y los registros tras la recuperación, tampoco se encontraron diferencias significativas (test Kolmogorov-Smirnov; p valor: 0,532046).

Ante esta falta de recuperación de la respuesta en ráfaga, presuponemos que es preciso un mayor período de tiempo tras la aplicación de EMT para obtener de nuevo una respuesta similar a la inicial. En las gráficas a continuación (pág. 114), se muestra tanto la respuesta promedio del total de células analizadas (Fig. 5.35A) como la respuesta de una única célula como representación de la muestra (Fig. 5.35B).

Por tanto, si bien la EMT a bajas frecuencias aplicado sobre V1 genera un efecto inhibitor sobre la corteza visual primaria que afecta a la actividad del NGL haciendo que ésta disminuya, dicho efecto no es homogéneo para ambos tipos de respuesta talámica (Fig. 5.36), afectando en mayor medida a las ráfagas de bajo umbral, las cuales presentan una disminución más acusada de la respuesta y precisan de un mayor intervalo de tiempo para su recuperación.

PORCENTAJE DISMINUCIÓN RESPUESTA

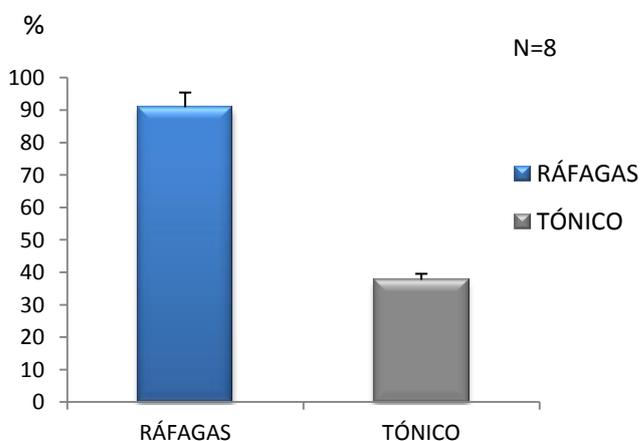


Fig. 5.36 Representación del porcentaje medio de disminución de respuesta en ráfaga y en espigas tónicas para 8 células durante los primeros 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo visual. La disminución de las ráfagas alcanza valores de aproximadamente el 91% mientras que el disparo tónico disminuye en un 37% de media.

RESPUESTA EN RÁFAGAS

A

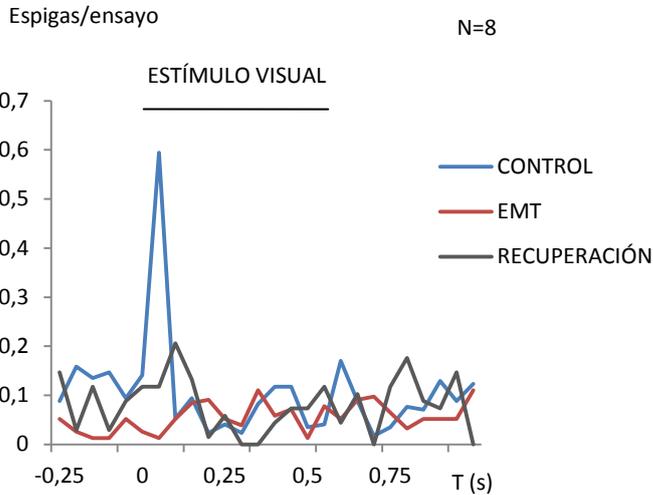
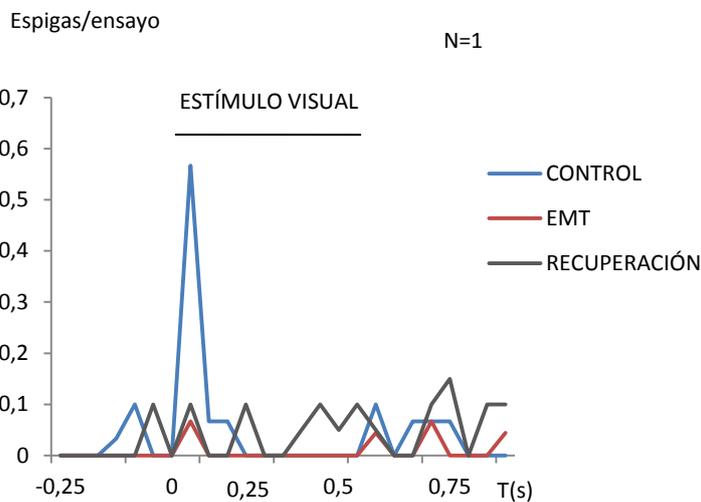


Fig. 5.35 Influencia de la EMT sobre las ráfagas de bajo umbral. **A)** Respuesta visual en ráfagas para una muestra de 8 células, previa a la aplicación de la EMT (control), respuesta en ráfagas inmediatamente después de la EMT (EMT) y la respuesta en ráfagas trascurridos 10 minutos desde la aplicación de la EMT (recuperación). Las ráfagas de bajo umbral disminuyen significativamente al aplicar EMT, no volviendo a los valores originales en el tiempo estudiado durante el protocolo experimental.

B



B) Se representa el mismo análisis para un ejemplo de una única célula de tipo parvocelular, mostrándose resultados semejantes en los tres tipos de registro (célula 3 - F2)

5.5.3 INFLUENCIA DE LA EMT SOBRE LA CONDUCTA OBSERVADA DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TAREA VISUAL

La EMT aplicada sobre la corteza visual primaria posee un efecto inhibitorio del bucle córtico-talámico, lo cual disminuye la actividad de las células del NGL, e interfiere de forma transitoria el procesamiento y transmisión de información visual. Por ello, es factible plantearse que esta disminución de la actividad neuronal pudiese afectar a la resolución de la tarea visual que el primate está realizando.

Para comprobar dicha teoría, se analizaron los porcentajes de errores de los registros previos e inmediatamente posteriores a la aplicación de EMT, así como en los registros tras el período de recuperación (Fig. 5.37). Si como hemos comprobado, la inhibición de la corteza afecta a la actividad talámica, y por tanto a la transmisión de información visual sobre los estímulos mostrados, debería observarse un efecto negativo en la resolución de la misma que se traduciría en un aumento del número de errores cometidos por el primate.

El análisis muestra un aumento significativo del número de errores en los registros posteriores a la aplicación de la EMT con respecto a los cometidos en los registros control o previos (Fig. 5.37), recuperando valores semejantes a los iniciales en los registros realizados tras el período de recuperación (15 minutos desde la aplicación de EMT).

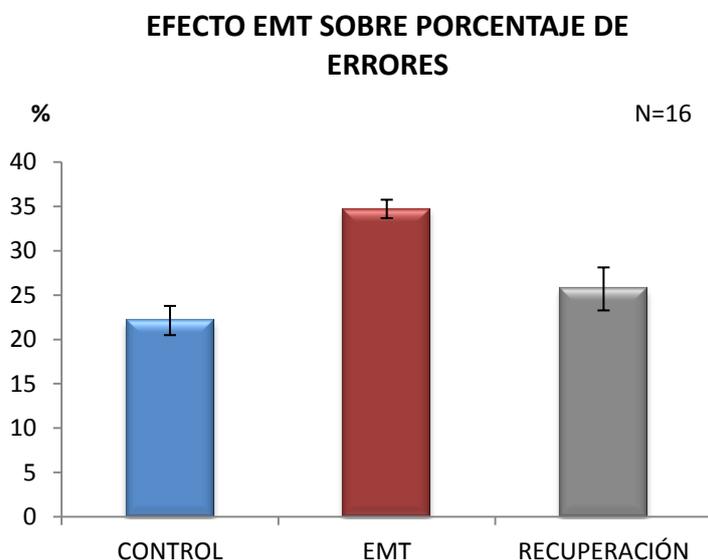


Fig. 5.37 Representación del porcentaje de errores en cada uno de los tres tipos de registros (control, EMT y recuperación) durante el registro de 16 células, mostrando que el número de errores aumenta tras la aplicación de los pulsos de estimulación respecto al porcentaje obtenido durante los registros control, determinando un efecto de la EMT sobre el procesamiento de la información (Test de Kruskal-Wallis; p valor: 0,00893358).

Estos resultados indican que la EMT, al afectar tanto a la corteza visual primaria como a la vía córtico-talámica, inhibe la transmisión de información entre ambas estructuras, lo cual se traduce en una disminución de la actividad en el NGL que afecta al procesamiento de información visual, y por tanto, a la correcta resolución de la tarea.

6. DISCUSIÓN

6.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS DISTINTAS RESPUESTAS NEURONALES EN EL NGL

En el NGL del tálamo, y como resultado de la aparición de un estímulo visual, existen dos tipos de respuesta implicadas en la transmisión de información a la corteza visual: el disparo tónico y las ráfagas de bajo umbral. Estas dos respuestas poseen características muy diferentes, pero ambas participan activamente en el procesamiento de los estímulos sensoriales, como se ha ido demostrando en numerosas investigaciones a lo largo de los últimos años (Guido et al., 1992, 1995; Guido & Weyand, 1995; Mukherjee & Kaplan, 1995; Reinagel et al., 1999; Edeline et al., 2000; Ramcharan et al., 2000; Swadlow & Gusev, 2001; Weyand et al., 2001).

Sin embargo, las ráfagas fueron consideradas durante un largo período de tiempo como un estado de desconexión neuronal, debido a que este tipo de actividad aparecía asociada al sueño de ondas lentas o a estados de anestesia profunda (Steriade et al., 1993a, b; McCormick & Bal, 1997). Es preciso tener en cuenta que la existencia de ráfagas de bajo umbral asociadas a ondas rítmicas sí es claramente observable en ciertos núcleos talámicos, y que la frecuencia de aparición de las mismas varía considerablemente en función del sistema sensorial del que estamos hablando. Por ejemplo, en el sistema somatosensorial, tanto durante el sueño como en estados de alerta, la proporción de ráfagas es mucho mayor (30-40%) que en el sistema visual, existiendo ráfagas asociadas a oscilaciones durante el sueño de ondas lentas (Steriade et al., 1993a, b; Ramcharan et al., 1999). Pero estos resultados no son aplicables a todos los núcleos talámicos, y concretamente, en el NGL no existe este mismo patrón para la respuesta en ráfaga.

Algunos estudios realizados en NGL de gato, demostraron que la aparición de ráfagas asociadas a fenómenos de oscilación rítmica, típicos de estados de sueño, eran procesos poco frecuentes en el patrón de generación de las ráfagas de bajo umbral (McCarley et al., 1983). Es más, diversos estudios llevados a cabo en tálamo de primate y gato también durante el sueño (Ramcharan et al., 2000; Weyand et al., 2001), determinaron que la aparición de ráfagas asociadas a oscilaciones rítmicas eran prácticamente inexistentes o bien fenómenos puntuales.

Es necesario señalar que sí se han encontrado ráfagas asociadas a fenómenos de oscilación rítmica en algunos experimentos realizados *in vitro* (Jahnsen & Llinás, 1984 a, b; McCormick & Pape, 1988; Leresche et al., 1991), o en ciertos registros realizados *in vivo* (Deschênes et al., 1984, 1985; Hu et al., 1989 a; Steriade et al., 1989, 1991; Curró Dossi et al., 1992), aunque, probablemente estos resultados sean debidos a que dichos experimentos se realizaron bajo condiciones experimentales diferentes a las fisiológicas, y que supone una desconexión entre el tálamo y sus aferentes.

De hecho, estudios más recientes (Grieve et al., 2009), corroborando hipótesis postuladas en trabajos previos (McCarley et al., 1983; Esguera & Sur, 1993; Ramcharan et al., 2000; Sherman & Guillery, 2002), muestran que ambas respuestas, en ráfagas y tónica, aparecen intercaladas durante la actividad talámica, indicando que la modulación de la respuesta en ráfagas supone mecanismos de gran complejidad, incluso durante estados de anestesia, que incluyen las propiedades de los circuitos locales implicados, las propiedades intrínsecas de la membrana y las características biofísicas de la corriente I_T (Steriade & Llinás, 1988; McCormick & Feese, 1990; Von Krosigk et al., 1993; Bal & McCormick, 1997).

Por otro lado, si bien el disparo tónico es la respuesta neuronal más abundante durante estados de alerta en las neuronas de relevo del NGL, también lo es durante el sueño, aunque en este estado, el porcentaje de ráfagas aumenta considerablemente en comparación con las existentes durante la vigilia. Este hecho es probablemente debido a los estados de mayor hiperpolarización de la membrana celular durante el sueño, que facilitan la aparición de la respuesta en ráfaga (Ramcharan et al., 1999).

En nuestros experimentos, de la muestra de 96 células analizadas para las dos tareas visuales, 50 células para la tarea visual 1 y 46 para la tarea visual 2, el 98% de las mismas respondió mostrando ráfagas de bajo umbral y potenciales de acción tónicos a lo largo de los registros electrofisiológicos realizados, sin existir diferencias significativas entre las respuestas mostradas por los tipos celulares magnocelular y parvocelular, o el tipo de campo receptor (ON/OFF).

Del total de las 96 células analizadas para las dos tareas, hubo 2 registradas durante la realización de la tarea visual 1 que no presentaron ráfagas en toda la duración del registro. Ambas eran células tipo ON y parvocelulares, aunque teniendo en cuenta que el porcentaje de células parvocelulares en la muestra (84%) es muy superior al porcentaje de células magnocelulares, y ya que no existen diferencias entre las respuestas de las células ON y OFF, el hecho de que ambas células sean del mismo tipo parece una cuestión de probabilidad.

La generación de uno u otro tipo de respuesta talámica, se debe a la activación de los canales de Ca^{2+} voltaje dependiente tipo T, que permiten la entrada de una corriente de Ca^{2+} hacia el interior celular (I_T) generando la espiga de calcio de bajo umbral, la cual, si tiene la suficiente duración, genera un conjunto de potenciales de acción clásicos de elevada frecuencia característicos del disparo en ráfaga (Jahnsen & Llinás, 1984a, b; Steriade & Llinás, 1988). La corriente de Ca^{2+} de bajo umbral destaca por su función en la transmisión de información hacia la corteza, y, de hecho, en todas las estructuras talámicas dorsales de mamíferos se generan ráfagas, siendo la existencia de esta característica a nivel interespecífico una prueba de la relevancia de este tipo de respuesta celular (Deschenes et al., 1984; Jahnsen & Llinás, 1984a, b; Hernández-Cruz & Pape, 1989; McCormick & Feese, 1990; Scharfman et al., 1990; Bal et al., 1995).

Ciertos estudios in vitro determinan que las variaciones del potencial de membrana para cambiar entre un modo de disparo y otro son pequeñas (≤ 10 mv) (Lu et al., 1992; Guido et al., 1992), y por ello, las células talámicas son capaces de modificar continuamente su respuesta

en función de la información que se esté transmitiendo a la corteza visual, ya que con ligeras fluctuaciones pueden activar o inactivar la corriente I_T .

Diversas aferencias están implicadas en estas variaciones del potencial de membrana generando uno u otro modo de disparo: las aferencias colinérgicas de la región parabránquial del tronco encefálico promueven el cambio de la respuesta en ráfagas al modo tónico (Hu et al., 1989a; Lo et al., 1991; Steriade et al., 1991). Otro ejemplo son las aferencias corticales, que, mediante la activación de receptores metabotrópicos y circuitos gabaérgicos (interneuronas), también provocan cambios en el patrón de disparo de las células talámicas (Godwin et al., 1996b).

Existen complejas relaciones entre el estado eléctrico de la membrana y el tiempo mínimo necesario para generar la espiga de calcio de bajo umbral. El valor establecido como mínimo para la activación de la corriente de calcio I_T es de 50 ms, pudiendo oscilar entre 50 y 100 ms en función del estado previo de la membrana celular (Jahnsen & Llinás, 1984a; Lu et al., 1992; Zhou et al., 1997; Destexhe et al., 1998a; Smith et al., 2000). Estas relaciones marcan la variabilidad observada en el porcentaje de espigas en ráfaga encontradas en las distintas células analizadas, porque, aunque la aparición de ráfagas es un hecho generalizado (94/96 células), el porcentaje de las mismas varía considerablemente de unas células a otras, existiendo una gran heterogeneidad a pesar de que los registros se realizaron en las mismas condiciones. La activación de la respuesta en ráfaga está controlada por una corriente de calcio voltaje dependiente, lo cual implica que todas y cada una de las entradas sinápticas que recibe una neurona influyen en su respuesta, incluyendo las aferencias moduladoras provenientes de la corteza (Sherman & Guillery, 1996; Reinagel et al., 1999; Sherman & Guillery, 2006; Briggs & Usrey 2009, 2011). Todos estos factores se traducen en una enorme variabilidad en la respuesta neuronal que fluctúa influenciada por el propio estado de la célula y las aferencias que ésta recibe.

En los registros realizados, la media del porcentaje de espigas en ráfaga es de un 5,31%, datos que coinciden con estudios previos en condiciones semejantes llevados a cabo por Ramcharan y colaboradores, donde los valores de ráfagas eran de un 6,6% del total de espigas analizadas. Es necesario tener en cuenta que la distribución de ráfagas no es homogénea a lo largo del registro, concentrándose el mayor porcentaje en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo. Estudios previos (McAlonan et al., 2008) refuerzan la idea de que este intervalo de tiempo es muy relevante en el análisis de tareas con implicación atencional, datos que coinciden con los resultados observados en nuestra investigación. En este intervalo, el porcentaje de ráfagas aumenta aproximadamente un 50% con respecto a los valores obtenidos para toda la duración del registro, alcanzando valores de 12% sobre el total de espigas.

En nuestro protocolo experimental, determinamos como respuesta en ráfagas de bajo umbral las espigas que cumplen los siguientes parámetros: un mínimo de dos espigas consecutivas, precedidas de un intervalo de tiempo de al menos 50 ms de silencio, con un ISI máximo entre espigas de 6 ms. Los parámetros temporales utilizados para la clasificación de las espigas como ráfagas en el presente trabajo, son definidos como “liberales” (Weyand et al., 2001; Allito et al., 2011), frente a aquellos definidos como “restrictivos”, que exigen un mínimo de 100 ms de silencio previo y un máximo de 4 ms de ISI (Lu et al., 1992; Guido and Weyand, 1995; Guido et al., 1995; Ramcharan et al., 2000; Weyand et al., 2001; Grubb & Thompson, 2005; Wang et al., 2006).

Al igual que en diversos estudios previos (Lu et al., 1992), el hecho de utilizar parámetros menos restrictivos, no modifica los resultados obtenidos en los distintos análisis.

Utilizamos dichos criterios liberales para intentar optimizar la detección de las espigas en ráfaga. Sin embargo, debido al uso de dichos parámetros, podemos estar incluyendo en nuestros análisis ciertas espigas que no cumplan los requisitos para ser clasificadas como ráfagas, o por el contrario, estar descartando espigas que sí lo son. Estudios previos (Lu et al., 1992) determinaron que el uso de estos parámetros (liberales) no modificaba los resultados obtenidos de forma cualitativa, y las comprobaciones que realizamos sobre nuestros resultados arrojaron idénticos resultados.

Por otro lado, otros estudios han demostrado que la duración de la espiga de calcio de bajo umbral generada es proporcional a la duración de la corriente I_T , y aunque ésta suele mantenerse el tiempo necesario para generar una ráfaga de potenciales de acción clásicos con dos o más espigas, característicos de la respuesta en ráfaga, algunas veces no tienen la suficiente duración y pueden generar un único potencial de acción clásico (o incluso no generar ninguno), que será clasificado como una espiga tónica mediante registros extracelulares (Ramcharan et al., 1999). En este estudio, al considerar las “ráfagas de una sola espiga”, el porcentaje de espigas en ráfaga aumentaba hasta alcanzar valores de 22,5% de espigas en ráfaga para las células tipo magnocelular y 15% para las células de tipo parvocelular.

Aún teniendo en cuenta todos estos factores, el número de ráfagas es muy inferior al de espigas tónicas. Ambos modos de respuesta tienen funciones diferentes, como explicaremos en el siguiente capítulo (ver apartado 6.2), y las ráfagas se caracterizan, entre otros factores, por una elevada capacidad para detectar estímulos debido a su excelente ratio señal-ruido (Guido et al., 1995; Sherman & Guillery, 2001; Sherman & Guillery, 2006), por lo que su distribución es mucho más restringida en el tiempo que en el caso de la respuesta tónica (100 ms tras la aparición del estímulo visual). No obstante, la cantidad de información transmitida por las ráfagas parece ser semejante a la que codifica el disparo tónico. Según diversos estudios, la tasa de información transmitida por una espiga simple, tanto tónica como perteneciente a una ráfaga, es de más de 1 bit/espiga, y llegando a alcanzar valores de 3 bit/espiga, datos que implican una capacidad de codificación del 60% para las espigas tónicas y del 63% para las ráfagas (Bialek et al., 1991; Rieke et al., 1995; Warland et al., 1998; Buracas et al., 1998; Reinagel et al., 1999), sugiriéndose que la ráfagas transmiten información visual a la corteza al igual que las espigas tónicas.

Un último factor que es preciso mencionar son los estímulos utilizados en los protocolos de registro. Algunos trabajos en sistema visual de gato anestesiado (Lesica & Stanley, 2004) han determinado que el número de ráfagas observadas aumenta de forma significativa ante estímulos visuales naturales (escenas de películas) respecto al porcentaje generado por estímulos visuales simples (ruido blanco), debido a la predominancia de ciertos rasgos específicos (frecuencias bajas) en los estímulos naturales que fomentan la aparición de la respuesta en ráfaga. Otros trabajos en sistema auditivo de la rana toro, muestran resultados semejantes, indicando un aumento del porcentaje de ráfagas ante estímulos auditivos con un espectro de amplitud semejante a los naturales (Rieke et al., 1995).

Por tanto, podría resultar que los estímulos utilizados, estáticos y simples, generasen un número inferior de ráfagas de las que se registrarían si se mostrasen imágenes naturales, es decir, similares a lo que podríamos llamar “estímulos visuales normales”, aunque, hasta el momento, desconocemos la existencia de trabajos que lo demuestren.

6.2 PAPEL DE LOS TIPOS DE RESPUESTA NEURONAL EN EL NGL DURANTE LA TRANSMISIÓN DE INFORMACIÓN SENSORIAL A LA CORTEZA VISUAL

Nuestros resultados dan solidez a la idea de que, tanto las espigas tónicas como las ráfagas de bajo umbral, son dos tipos de respuesta talámica igualmente efectivas en el procesamiento y transmisión de información visual a la corteza. La diferencia entre ambas respuestas es el tipo de información sobre los estímulos que transmiten a V1 (Guido et al., 1992, 1995; Radhakrishmana et al., 1999; Reinagel et al., 1999; Edeline et al., 2000; Ramcharan et al., 2000; Swadlow & Gusev, 2001; Weyand et al., 2001; Sherman & Guillery, 2006). Un papel relevante para las ráfagas ya fue propuesto por Francis Crick en 1984, con la llamada *searchlight hypothesis*. Esta hipótesis plantea, desde una perspectiva puramente teórica, que las ráfagas de bajo umbral funcionan como detectoras de estímulos novedosos existentes en el campo visual. Por tanto, parece lógico que ráfagas y espigas tónicas posean una distribución diferente. Las ráfagas de bajo umbral aparecen concentradas en un 90% de su totalidad en los 100 ms tras la aparición del estímulo, desapareciendo a continuación, ya que su función sería alertar a la corteza de la presencia de un estímulo visual nuevo al que se debe prestar atención. La respuesta tónica, sin embargo, aparece a continuación de las ráfagas de bajo umbral y se mantiene durante toda la presentación del estímulo, analizando detalladamente las características del mismo (Fig. 6.1).

Acorde a esta hipótesis, resulta razonable que el porcentaje de ráfagas sea inferior al de espigas tónicas, ya que para realizar su función, no es preciso un elevado número de espigas (Ramcharan et al., 1999). Otro factor relevante para determinar la mayor eficacia de las ráfagas para transmitir información a la corteza, es que, previamente a la generación de la ráfaga, se produce una hiperpolarización de la membrana, lo cual se traduce en un silencio previo a la misma, evitándose el fenómeno denominado depresión sináptica que ocurre en las sinapsis de neuronas corticales (Abbott et al., 1997; Varela et al., 1999). Por ello, los PEPS generados por una ráfaga son considerablemente mayores (se suman en el tiempo) que aquellos originados por una espiga tónica, y por tanto, mucho más adecuados para “despertar” una respuesta cortical (Usrey et al., 2000; Swadlow & Gusev, 2001; Swadlow et al., 2002).

Una de las características que diferencia a ambos modos de disparo es la distinta proporción de espigas entre la respuesta visual espontánea y la respuesta evocada. En el caso de las ráfagas, la baja respuesta mostrada durante el tiempo previo a la aparición del estímulo (-0,5 a 0 segundos en la gráfica), unida a la fuerte respuesta ante el mismo, determina que el ratio señal-ruido (relación entre la actividad espontánea y la respuesta a un estímulo) sea óptimo

(Guido et al., 1995; Sherman & Guillery, 2006), aumentando la eficacia de las ráfagas a la hora de detectar estímulos.

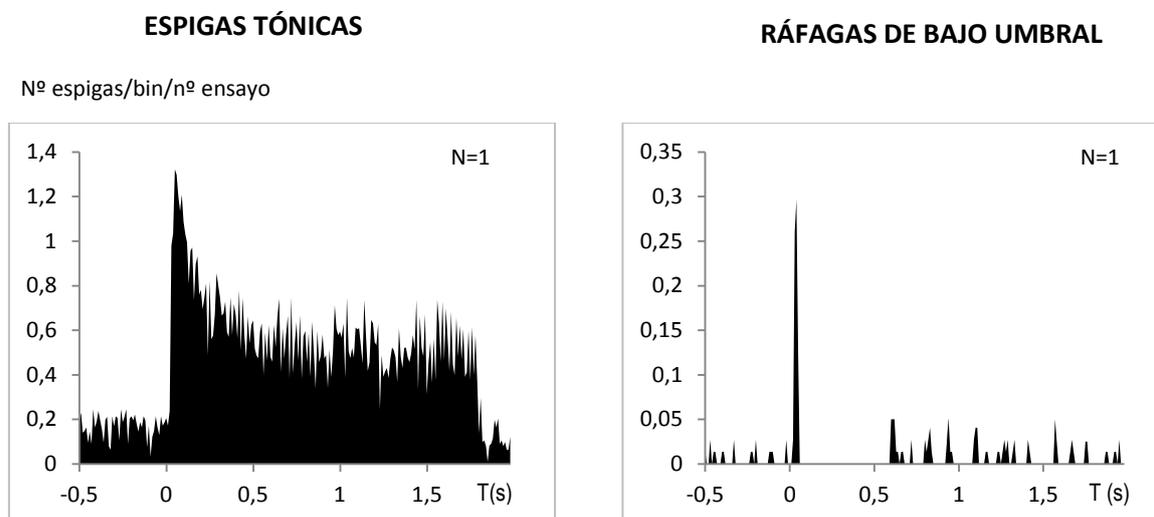


Fig. 6.1 Ejemplo de respuesta visual tónica y en ráfagas para una única célula de tipo parvocelular (célula 12-F1). Se observa la diferencia entre las distribuciones de las dos respuestas talámicas (bin: 10 ms)

Así, por ejemplo, ante estímulos de bajo contraste, el disparo tónico será mucho más débil que la respuesta en ráfagas, ya que se caracteriza por presentar una respuesta proporcional a las características del estímulo visual (linealidad) (Sherman & Guillery, 2006). Esta teoría ha sido comprobado en diversos experimentos, en los cuales, mediante técnicas de detección de señales, se medía la mayor o menor capacidad de cada respuesta para detectar estímulos en un fondo con ruido blanco (Green & Swet, 1966; Macmillan & Creelman, 1991). Todas las células analizadas mostraron una mayor capacidad para detectar estímulos durante la respuesta en ráfagas frente a la respuesta tónica.

Por linealidad entendemos la existencia de una correlación entre la respuesta celular y las variaciones de las características del estímulo, de manera que se produce una modificación (aumento o disminución) de la respuesta tónica acorde a los cambios en el estímulo visual (Guido et al., 1992, 1995; Mukherjee & Kaplan, 1995). Esta característica le confiere a la respuesta tónica una mayor capacidad de análisis de los rasgos del estímulo. El hecho de que durante la actividad espontánea la respuesta tónica sea mayor que la respuesta en ráfaga, facilita la linealidad en la respuesta visual evocada, al ser posible la transmisión a la corteza visual de todo el rango de respuestas (excitadoras e inhibitoras) generadas por la variación en las características del estímulo (Sherman & Guillery, 2006).

Una última característica que apoya la teoría de que las ráfagas de bajo umbral realizan la función de detectar estímulos es su preferencia por las frecuencias temporales comprendidas entre 4 y 10 Hz.

Las neuronas talámicas en modo tónico responden ante un amplio rango de frecuencias (Mukherjee & Kaplan, 1995). Así, en el NGL de gato, se ha comprobado que las neuronas en modo tónico son capaces de responder ante frecuencias bajas, y continúan respondiendo adecuadamente a medida que aumenta la frecuencia del estímulo hasta alcanzar su resolución límite.

Sin embargo, las ráfagas no se comportan de la misma manera. Si la frecuencia del estímulo es muy baja (< 1Hz) o muy alta (>10 Hz), la respuesta en ráfaga es muy débil, mientras que ante frecuencias medias (~4Hz) es óptima. Esta preferencia por dicho rango de frecuencias indica que las ráfagas están orientadas a la detección de cambios repentinos o rápidos de los estímulos en el campo visual, respondiendo escasamente a estímulos estáticos o cambios graduales, ante los cuales resulta mucho más efectiva la respuesta tónica.

En conclusión, tanto el modo tónico como las ráfagas transmiten información a la corteza, participando de forma activa en el procesamiento visual. La diferencia entre ambas respuestas es qué información envían o cómo la envían. Las ráfagas, por sus características, parecen óptimas candidatas para la detección de cambios en los estímulos visuales, mientras que las espigas tónicas destacan por su capacidad de procesar detalladamente las características de dichos estímulos. Sin embargo, queda una cuestión por resolver: además de indicar cambios en los estímulos presentes en el campo visual, ¿codifican las ráfagas información sobre dichos estímulos?

6.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS RÁFAGAS: NÚMERO DE ESPIGAS, FRECUENCIA Y DURACIÓN EN FUNCIÓN DEL ESTÍMULO VISUAL

Si tal y como plantean ciertos estudios previos (Sherman, 1996, 2001, 2006; Swadlow & Gusev, 2001) las ráfagas de bajo umbral son la fracción de la respuesta talámica encargada de detectar estímulos novedosos presentes en el campo visual, y transmitir dicha información rápidamente a la corteza, podrían existir diferencias en las características de las ráfagas generadas ante distintos estímulos en función de su grado de "novedad" (figura diferente vs distractores en nuestro protocolo).

Se ha sugerido que la cantidad de información contenida en una ráfaga está en su mayoría codificada por la primera espiga que se genera en la misma, mientras que las demás espigas que constituyen el tren de potenciales de acción prácticamente carecen de información y son complementarias de la primera (Reinagel et al., 1999). Según esta teoría, las ráfagas se comportarían como una unidad funcional, independientemente del número de componentes (espigas) de la misma. Esto se debería al silencio previo a la ráfaga de potenciales de acción, el cual le confiere a ésta la propiedad de generar en la sinapsis cortical un PEPS de magnitud semejante, independientemente del número de espigas que constituyan dicha ráfaga (Guido et al., 1995; Sherman, 1996).

Sin embargo, otros estudios determinan que existe una relación entre la tasa de disparo celular y la capacidad de codificación de información (Borst & Haag, 2001), siendo ambas directamente proporcionales. Si esto fuese así, y el único factor relevante para la transmisión de información a la corteza fuese la frecuencia, las espigas tónicas de alta frecuencia podría transmitir la misma cantidad de información que una ráfaga, y sin embargo, esto no ocurre: una neurona en modo tónico con una elevada frecuencia de disparo es menos eficaz codificando información acerca de la detección de un nuevo estímulo que una ráfaga. Es más, ciertos estudios argumentan que, para que el código neuronal sea eficiente, la frecuencia de disparo debe ser baja (Rolls & Tovee, 1995; Vinje & Gallant, 2000). La dinámica de la respuesta en ráfaga presenta una tasa de disparo baja, con una proporción significativa de potenciales de acción de elevada frecuencia, características que le confieren unos rasgos óptimos como detectoras de estímulos.

Los análisis realizados muestran que para el intervalo de 100 ms analizado tras la aparición del estímulo visual, el número de espigas en ráfaga para ambas tareas es mayor cuando el estímulo presente es el novedoso frente a cuando aparecen los distractores (tarea visual 1, p valor: 0,00337393; tarea visual 2, p valor: 0,0160913), sin embargo este aumento podría ser debido al incremento del número de espigas por ráfaga o bien al número de ráfagas.

Por este motivo, realizamos un análisis cluster sobre 3 características de las ráfagas de bajo umbral, frecuencia, duración y número de espigas, de forma independiente para ambos estímulos y en las dos tareas visuales. Los análisis se realizaron sobre el cluster mayoritario (cluster que abarca el mayor porcentaje de espigas), que en ambos casos, contenía al menos el 70% del total de espigas analizadas. Los resultados mostraron nuevas diferencias entre las respuestas de las neuronas talámicas ante los dos tipos de estímulos visuales en ambas tareas, indicando claramente que la estructura interna de la ráfaga variaba cuando se trataba de detectar el estímulo novedoso, y sugiriendo que, si las ráfagas funcionan como detectoras de estímulos visuales, sus características (número de espigas, duración y frecuencia), codifican la información sobre dicho estímulo, existiendo una relación entre el grado de novedad del mismo y el número de espigas y consiguiente duración de la ráfaga.

Este aumento del número de espigas en ráfaga, podría ser debido a varias causas, como por ejemplo una preferencia de la célula registrada por alguna de las características (tamaño, brillo y contraste) de los distintos estímulos, distractores o figura diferente. Descartamos esta hipótesis debido a hemos sido muy cuidadosos de que todas las figuras geométricas utilizadas como estímulos posean las mismas características. Además, utilizamos estímulos estáticos, lo que elimina la posibilidad de que existiese una preferencia ante la frecuencia temporal o espacial. Otra posibilidad podría ser atribuible a la diferente forma de los estímulos, aunque la explicación más simple es considerar que los estímulos se cambiaban aleatoriamente, y un círculo, por ejemplo, podría aparecer como distractor o como figura diferente, y solamente cuando aparecía como figura novedosa, era cuando evocaba las ráfagas con las características de detección.

Por tanto, en base a nuestros resultados, parece que las ráfagas de bajo umbral codifican información a través de sus características intrínsecas, siendo el parámetro que determina el grado

de novedad del estímulo el número de espigas generadas en la ráfaga: la figura diferente resulta más novedosa, generando mayor grado de novedad que la presencia de los distractores, lo cual se traduciría en un aumento del número de espigas en la ráfaga. Corroborando esta hipótesis, numerosos estudios concluyen que el factor determinante en la transmisión de información es el número de potenciales de acción en la ráfaga (Desimone & Duncan, 1995; McAdams & Maunsell, 1999; Maunsell & Cook, 2002; Reynolds & Chelazzi, 2004).

También es preciso tener en cuenta que en ambas tareas la frecuencia de disparo es mayor ante la presencia de los distractores. Como mencionamos anteriormente, numerosos estudios apoyan la teoría de que la capacidad de codificación de información neuronal se basa en la frecuencia de las espigas (Thomson & Deuchars, 1994, 1997; Lisman, 1997; Thomson, 2000a, b; Chung et al., 2002; Thomson & West, 2003; Reichova & Sherman, 2004), y, aunque nuestros resultados apuntan a que la información acerca de la novedad del estímulo se transmite en base al número de espigas, podría ser que otro tipo de información sobre los distractores se estuviese transmitiendo mediante la frecuencia de disparo de la ráfaga.

Por último, el estudio de las distribuciones de densidad de probabilidad de las espigas en ráfaga para los dos tipos de estímulos, permitió comprobar la importancia del contexto temporal en el que aparecen las ráfagas. En ambas tareas, se observó que, ante el estímulo visual novedoso, las espigas aparecen más concentradas en el tiempo, existiendo diferencias significativas entre las distribuciones (tarea visual 1, p valor: 0,0491; tarea visual 2, p valor: 0,0214). Esta tendencia a la concentración de las ráfagas ante el estímulo novedoso podría estar indicando el tiempo óptimo de detección de los nuevos estímulos.

6.3. EFECTOS ATENCIONALES SOBRE LA CARACTERIZACIÓN DE LOS DIFERENTES ESTÍMULOS VISUALES

El efecto de la atención sobre el procesamiento de información visual es, debido a la inmensa cantidad de información que obtenemos por esta vía sensorial, imprescindible para la percepción selectiva de aquellos estímulos relevantes en cada momento.

La atención puede ser descrita como directa o indirecta (Posner, 1980), refiriéndose a los movimientos oculares que realizamos para enfocar el estímulo que reclama nuestra atención (atención directa) o por el contrario, si enfocamos nuestra mirada en otro punto manteniendo el estímulo dentro de nuestro campo visual, pero sin dirigir una atención directa sobre él (atención indirecta). Este último tipo de atención tiene grandes beneficios a la hora de desarrollar un protocolo experimental, mejorando por ejemplo la resolución espacial (Yeshurun & Carrasco, 1999) o la velocidad de reacción (Posner, 1980) en la detección de estímulos. Otros posibles efectos atencionales sobre la modulación de la respuesta neuronal se producen en función del contraste del estímulo o de la proporción entre el tamaño de dicho estímulo y del área visual de trabajo del primate (Reynolds et al., 2000; Reynolds & Heeger, 2009).

De hecho, las tareas de discriminación o búsqueda de estímulos visuales mediante atención indirecta han sido utilizadas en numerosos protocolos experimentales y en diferentes áreas cerebrales obteniéndose excelentes medidas indirectas de posibles efectos atencionales sobre la resolución de las mismas (McPeck & Keller, 2002b; Thomas & Pare, 2007; Ipata et al. 2009).

En nuestro protocolo experimental, planteamos dos tareas visuales de diferente complejidad, aunque en ambas observamos un efecto “pop-out”, en el que un objeto o estímulo (en nuestro caso, la figura novedosa o diferente) destaca sobre los demás (distractores) de manera que la atención se centra automáticamente en él (Maljkovic & Nakayama, 1994, 1996; McAdams & Maunsell, 2000; revisado por Treue, 2001; Buracas & Albright, 2009).

En función del grado de complejidad de la tarea, los mecanismos atencionales implicados son diferentes. Treisman (Treisman & Gelade, 1980; Treisman & Souther, 1985; Treisman, 1998) propuso el mecanismo mediante el cual la atención influye durante la resolución de las tareas de discriminación visual, como las que empleamos en nuestro protocolo. Según su teoría, en áreas superiores relacionadas con la atención, se genera un mapa “maestro” en el cual se localizaría la figura novedosa (en el caso de nuestras tareas visuales), diferenciándola de los distractores. En un primer intervalo de 100 ms tras la aparición del estímulo, las aferencias visuales llegan a áreas corticales mediante un mecanismo atencional de “bottom-up” (Nowak et al., 1995; Thorpe et al., 2001; VanRullen et al., 2001), descomponiendo el estímulo en sus rasgos básicos (forma, color, etc), y enviando dicha información a áreas superiores, las cuales procesan esta información y, mediante aferencias retrógradas hacia estructuras en niveles iniciales de la vía visual (como el NGL), centran la atención sobre el estímulo que destaca sobre los demás.

La atención espacial afecta a la respuesta neuronal en todas aquellas áreas corticales que han sido estudiadas, aumentando la respuesta cuando el estímulo se sitúa sobre el campo receptor frente a la obtenida cuando el estímulo se sitúa en cualquier otra posición (Maunsell & Cook, 2002). Estudios en neuronas del área cortical V4, indicaron la existencia de un incremento medio de la respuesta fue de un 26%, si bien dicho aumento no fue homogéneo en toda la muestra. La influencia de los efectos atencionales varía en función del área cortical que estudiemos, aumentando en áreas superiores (revisado por Treue, 2001), aunque diversos estudios han determinado un claro efecto atencional en V1, aplicando técnicas de EMT para inhibir la corteza (Juan & Walsh, 2003; Dugué et al., 2011).

Además, investigaciones recientes han concluido que, también en el NGL, existen mecanismos atencionales que afectan al procesamiento de la información, incrementando la respuesta del NGL, al tiempo que disminuye la actividad en el NRT, y cuyo efecto se manifiesta en los 100 ms inmediatamente posteriores a la aparición del estímulo (McAlonan et al., 2008). De hecho, desde que en 1984 Crick postuló que en el mecanismo atencional están implicados tanto el NGL como el NRT, numerosos estudios han corroborado estos resultados (Motter, 1993; Luck et al., 1997; Roelfsema et al., 1998; Vidyasagar, 1998; Ito & Gilbert, 1999; McAdams & Maunsell, 1999; Marcus & Van Esen, 2002).

Por otro lado, algunos estudios con tareas de discriminación visual, indican que la atención varía de ensayo a ensayo dentro de la misma tarea (McAdams & Maunsell, 1999a; Reynolds et al., 2000), determinando una modulación dinámica de la actividad neuronal.

Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestra investigación, al disminuir la respuesta visual a medida que progresa la tarea. Probablemente, dicha disminución sea debida a una pérdida de atención o habituación hacia la misma.

La habituación consiste en una pérdida de atención ante la exposición repetitiva a un estímulo, que a nivel fisiológico se traduce en una atenuación de la respuesta celular (Thorpe, 1963). Al principio de cada sesión de registro, los estímulos mostrados son “nuevos”, y a medida que avanza la tarea, las distintas combinaciones de figuras se van repitiendo (existen unas 50 combinaciones diferentes de figuras y distribuciones en el espacio que se muestran de forma aleatoria) perdiendo su carácter novedoso y disminuyendo la respuesta neuronal en ráfagas.

Es necesario indicar que el grado de disminución de la tasa de respuesta debido a efectos atencionales está íntimamente relacionado con la complejidad y la duración de la tarea planteada (Richmond & Sato, 1987; Motter, 1993; Luck et al., 1997). En nuestros datos, el porcentaje de disminución es semejante en ambas tareas, aunque el número mínimo de ensayos necesarios para obtener un efecto parecido es de 60 en la tarea visual 1 y de 150 en la tarea visual 2.

Estos resultados probablemente son debidos a los dos factores mencionados anteriormente: por un lado, las diferencias en la complejidad de ambas tareas, y en segundo lugar, la duración de cada ensayo. La tarea 1 plantea ensayos de mayor duración que la tarea 2 (2,5 segundos de duración entre fijación y presentación de estímulos para la tarea 1, frente a 1 segundo para la tarea 2), y una mayor complejidad, por lo que resulta consecuente que el número de ensayos sea inferior en la tarea 1 (60 ensayos por registro) para obtener resultados semejantes a los observados en la tarea 2 (150 ensayos por registro).

Es preciso tener en cuenta también un factor metodológico en las tareas, y es que en la tarea 1, al haber 4 estímulos visuales, uno de ellos siempre se localiza sobre el CR. Sin embargo, en la tarea 2, tan sólo 1/4 parte de las veces hay una figura sobre el CR de la célula que estamos registrando, por lo que, a efectos estadísticos, necesitamos un número de ensayos totales por registro muy superior en esta tarea, al “perder” parte de los datos, ya que sólo registramos la respuesta celular en una de las cuatro posiciones en las que aparece la figura.

Por último, comparamos la disminución del número de espigas en la figura novedosa y los distractores por separado. Los resultados muestran una disminución del número de espigas en ambos casos, si bien dicha disminución es mucho más acusada en el caso de la figura diferente debido a la existencia de una tasa de respuesta muy superior en los ensayos iniciales (p valor: 0,0000232861), como resultado de un efecto atencional causado por la “novedad” del estímulo frente a los distractores.

El número de espigas en ráfaga de ambos tipos de estímulos en los ensayos finales es muy semejante (0,59 espigas/ensayo para la figura diferente vs 0,51 espigas/ensayo para los distractores) y no significativa (p valor: 0,978253). Por tanto, la clave de las diferencias en la respuesta en ráfagas entre los distractores y el estímulo novedoso se encuentra en los primeros ensayos de los registros, cuando el estímulo novedoso genera una mayor atención que se traduce en una mayor proporción de espigas en ráfaga (0,945 espigas/ensayo para la figura diferente vs 0,64 espigas/ensayo para los distractores).

En el caso de las espigas tónicas, nos centraremos en el análisis de la respuesta en la tarea visual 2, por ser la más apropiada para comprobar posibles efectos atencionales sobre la tasa de disparo, como se demostró con el análisis de las ráfagas.

El número de espigas en ráfaga disminuye a medida que se desarrolla la tarea visual, si bien no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos, ni para la figura diferente (p valor: 0,565439), ni para los distractores (p valor: 0,4765140). El análisis en función del estímulo, muestra en ambos casos una disminución semejante del número de espigas (~15%), con valores parecidos en los ensayos iniciales y finales tanto para la figura novedosa como para los distractores. Por tanto, el comportamiento de ráfagas y espigas tónicas es completamente diferente.

Aunque los efectos atencionales influyen sobre toda la respuesta talámica, tónica y en ráfagas, los efectos sobre las ráfagas de bajo umbral son mucho más acusados, lo cual es consecuente con la teoría de que las ráfagas actúan como detectoras de estímulos novedosos. La atención influye directamente sobre la actividad de las neuronas de proyección talámicas, aumentando su respuesta en ráfaga (duración y número de espigas) e incrementando la eficacia con la cual la información visual es transmitida a la corteza. Además, estas diferencias están generadas por mecanismos atencionales producidos en el propio NGL, ya que los intervalos de tiempo analizados (100 ms) son demasiado breves como para reflejar una modulación cortical (McAlonan et al., 2008).

6.4. PAPEL DEL BUCLE TÁLAMO-CÓRTICO-TALÁMICO EN EL PROCESAMIENTO VISUAL: EMT

El bucle tálamo-córtico-talámico es un circuito de elevada complejidad que interrelaciona el NGL con V1, coordinando ambas estructuras y promoviendo un procesamiento eficaz y dinámico de la información visual.

Las aferencias córtico-talámicas establecen conexión en las neuronas de proyección talámicas y en las interneuronas inhibitorias del NRT, y, simultáneamente, envía colaterales a capa 4 de la propia corteza. De hecho, estas colaterales suponen un 40-45% del total de aferencias recibidas por esta capa, mientras que las entradas talámicas son tan sólo un 6-9% (revisado por Sillito et al., 2006). Por tanto, la capa 6 posee un papel clave en la coordinación de la actividad del bucle tálamo-córtico-talámico. De hecho, las aferencias córtico-talámicas poseen varios efectos sobre el NGL, como por ejemplo definir los campos receptores de las neuronas de proyección talámicas (Murphy & Sillito, 1987; Sillito & Jones, 2002; Webb et al., 2002) y mejorar la transmisión de información entre el NGL y la corteza (McClurkin et al., 1994; Funke et al., 1996; Sillito & Jones, 2002; Andolina et al., 2007; de Labra et al., 2007). Estos efectos se ven incrementados por la atención, y han sido extensamente documentados en V1 (Marcus & Van Essen, 2002; McAdams & Reid, 2005; Chen et al., 2008; revisado por Briggs & Usrey, 2011).

La EMT es una técnica con numerosas ventajas en su aplicación en protocolos experimentales (es una técnica no invasiva, de fácil aplicación y de efecto reversible) que ha sido empleada extensamente para evaluar el sistema nervioso (Pascual-Leone & Walsh, 2001; Juan & Walsh, 2003; revisado por Merabet et al., 2003).

La duración del efecto puede controlarse modificando los parámetros de estimulación de los pulsos: número, intensidad y frecuencia de los mismos. Sin embargo, algunos estudios determinan la influencia de otros parámetros en el efecto obtenido tras la aplicación de EMT, como el nivel basal de actividad del organismo o la propia variabilidad entre sujetos (Allen et al., 2007). Estos factores resultan de igual importancia a la hora de llevar a cabo un protocolo de estimulación, pudiendo ser causa de variabilidad en los resultados obtenidos. En nuestros experimentos se ha intentado minimizar en lo posible la variabilidad, y la consistencia de los datos obtenidos sugieren que así ha sido.

Sin embargo, la técnica de EMT también presenta algunas limitaciones, como son su resolución espacial, la cuál es de aproximadamente 1 cm, o la disminución del campo eléctrico a medida que nos alejamos de la bobina (revisado por Huerta & Volpe, 2009). Sin embargo, para modificar la actividad de áreas superficiales como la corteza cerebral, el campo magnético generado tiene la suficiente intensidad como para producir un efecto inhibitorio durante unos minutos.

Para la estimulación, se utilizó una bobina en forma de ocho de pequeñas dimensiones (25 mm), ya que bobinas de mayor tamaño generan campos magnéticos (y consecuentemente eléctricos) de menor intensidad (Lin et al., 2000). La bobina utilizada permite una mayor precisión espacial a la hora de aplicar los pulsos de EMT, con máxima intensidad de corriente en el punto de intersección de ambas espiras (Rothwell, 1997; Hallet, 2007), aunque también se genera un campo eléctrico de menor intensidad bajo la superficie de la bobina, el cual va disminuyendo a medida que nos alejamos del punto medio de la misma. Teniendo en cuenta que la bobina de estimulación se sitúa sobre la piel del primate y que el grosor del cráneo es de aproximadamente 3 mm, calculamos que el campo magnético generado fue de 1,5 T en el punto de intersección de ambas bobinas, el cual se centró sobre la corteza visual.

A pesar de todas las consideraciones y en función de las dimensiones del cráneo del macaco y del protocolo estimulado, no podemos descartar completamente que se pueda haber afectado otras áreas de la corteza, como el área V2. En cualquier caso, ello no debería suponer un cambio en nuestros resultados.

Un dato a tener en cuenta, es el de la duración del efecto, que en nuestro caso fue de unos pocos minutos, frente a otros protocolos similares que han conseguido, en humanos, efectos mucho más prolongados en el tiempo (Chen et al., 1997). Lo que fundamentalmente explica esta diferencia parece ser, simplemente, el diferente tipo de estimulación, que en el caso del trabajo de Chen et al. (1997), alcanzó los 15 minutos. Nuestro protocolo utiliza tiempos de estimulación inferiores, 5 minutos, debido principalmente al uso de una bobina más pequeña y al calentamiento de la misma (bobina en ocho de 25 mm frente a las bobinas en ocho de 70 mm utilizadas en el estudio mencionado de Chen et al.), factor limitante en el empleo de la EMT.

En cuanto al mecanismo por el que la EMT bloquea la actividad cortical, no existe una explicación definitiva. Varios estudios en la corteza visual de humanos durante la realización de una tarea de discriminación han mostrado que el efecto de la inhibición cortical mediante EMT se basa en la modificación de la relación señal/ruido. Por un lado se ha sugerido que el efecto inhibitorio de la EMT disminuye la fuerza con la que la señal (información visual) es transmitida (Harris et al., 2008), mientras que para otros la explicación es distinta, y se ha señalado que la acción sobre la corteza posee un efecto modulador del ruido colindante, afectando a la eficacia en la transmisión de la información visual (Ruzzoli et al., 2010). En cualquier caso, los efectos observados en nuestro trabajo son perfectamente compatibles con una disminución de la salida cortical y coinciden con datos previos observados en la corteza visual del gato (de Labra et al., 2007; Espinosa et al., 2007). Los resultados obtenidos muestran que la disminución de la respuesta visual evocada fue de un 50,76% de media durante los 100 ms tras la aparición del estímulo y posteriores a la aplicación de la EMT.

Por otra parte, la reducción de la actividad espontánea en el tálamo es un buen indicador del efecto generado tras la aplicación de los pulsos electromagnéticos, según estudios previos (Sillito et al., 1990; McCormick & Von Krosigk, 1992; Cox et al., 1998), siendo de un 36,22 % en nuestra muestra, al analizar los 100 ms previos a la aparición del estímulo.

Si bien nuestros resultados muestran una disminución general de la actividad talámica, el comportamiento de ambas respuestas, tónica y en ráfagas, es diferente. Las espigas tónicas sufren una caída máxima en los primeros 100 ms tras la aparición del estímulo (38%), precisamente coincidiendo con el intervalo de mayor respuesta. En los siguientes intervalos, el porcentaje de disminución de respuesta disminuye progresivamente (22%-7%).

El análisis de la respuesta tónica muestra resultados afines a los obtenidos en estudios previos al bloquear la corteza visual mediante diferentes técnicas, como la criogenización (Funke & Wörgötter, 1995; Wörgötter et al., 1998) o bien farmacológicamente (Wörgötter et al., 1998; Rivadulla et al., 2002), indicando que la supresión de la actividad cortical produce una disminución de la actividad talámica. Esto es consecuencia principalmente de una supresión de las aferencias excitadoras glutamatérgicas, las cuales mediante su acción sobre receptores metabotrópicos en el NGL, generan PEPS lentos y duraderos que promueven la respuesta tónica. (Godwin et al., 1996a; Turner & Salt, 1998; Castro-Alamancos & Oldford, 2002; Granseth et al., 2002; Rivadulla et al., 2002; Li et al., 2003a; Reichova & Sherman, 2004). Además, se produciría un aumento de la actividad inhibitoria de las interneuronas localizadas en el perigeniculado, debido a una disminución de las entradas glutamatérgicas al mismo (Sánchez-Vives et al., 1997), lo que contribuiría a incrementar la supresión de la actividad talámica (Rogala et al., 2012).

En cuanto a la respuesta en ráfaga, los datos son, en algunos casos, aparentemente contradictorios. Se ha determinado que la aplicación de EMT a bajas frecuencias en corteza de gato anestesiado no genera un efecto supresor sobre la respuesta en ráfagas (de Labra et al., 2007), e incluso otros trabajos sugieren que el número de ráfagas debería aumentar ante tales protocolos de estimulación, en respuesta a una inhibición cortical, que generaría un estado de hiperpolarización talámica promoviendo la respuesta en ráfagas (Funke & Wörgötter, 1995; Wörgötter et al., 1998).

Por el contrario, otras investigaciones determinan la existencia de una disminución selectiva en función del tipo celular analizado (X ó Y en gato) del número de espigas en ráfaga ante la aplicación de EMT a bajas frecuencias (1 Hz), de manera que la respuesta máxima en ráfagas en las células tipo X disminuida en un 18%, mientras que en las células tipo Y no se producían modificaciones en la respuesta (Waleszczyk et al., 2005). Otros estudios añaden nuevos datos (Espinosa et al., 2011) e indican que esta disminución en la respuesta máxima está acompañada de un aumento en la latencia de aproximadamente 1 ms. Además, Espinosa y colaboradores, indican que el porcentaje de ráfagas en las células tipo Y se ve incrementada al aplicar EMT a bajas frecuencias (1 Hz) siempre y cuando el número de espigas en condiciones control fuese inferior al 40-50%. Resultados semejantes habían sido propuestos en investigaciones previas que clasificaban las células tipo Y en NGL de gato anestesiado en dos subgrupos en función del porcentaje de la fracción de respuesta en ráfaga (Mujereé & Kaplan, 1995).

Debido a que la EMT es una técnica de naturaleza no específica, afecta simultáneamente a complejos mecanismos neuronales en la corteza (Fig. 6.2), y su aplicación implica la activación de mecanismos excitadores, inhibidores y moduladores, así como de otros cambios a nivel no neurológico, como pueden ser variaciones en el flujo sanguíneo (Allen et al., 2007), efecto que, sin embargo, es más una consecuencia de la disminución de actividad neuronal que una causa. Por tanto, un simple pulso de EMT genera una cadena de efectos sobre complejas redes neuronales, siendo difícil concretar la causa de la inhibición prolongada de la respuesta en ráfaga.

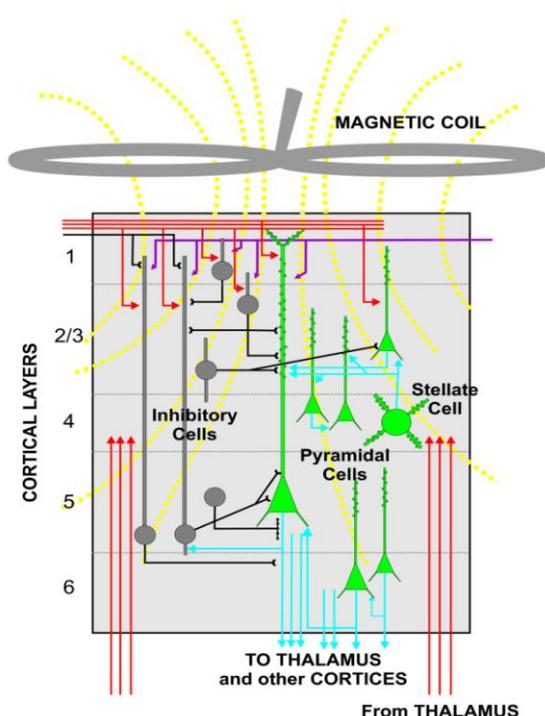


Fig. 6.2 Representación del efecto que un pulso magnético aplicado en la corteza ejerce sobre ésta. Se muestra una bobina electromagnética en forma de ocho situada sobre la corteza cerebral, generando una corriente eléctrica que afecta a las capas de la corteza (indicadas mediante números a la izquierda de la figura). Se observa la activación tanto de neuronas excitadoras (azules y verdes en la figura), como inhibidoras (en gris), así como el efecto sobre las aferencias provenientes de otros núcleos hacia la corteza, como pueden ser las aferencias talámicas (Adaptado de Huerta & Volpe, 2009)

En relación con este último punto, y teniendo en cuenta que la actividad basal previa a la aplicación de la EMT es fundamental para determinar el efecto de la misma (Silvano & Pascual-Leone, 2008), una posible causa del efecto inhibitorio observado sobre las ráfagas de bajo umbral es la activación previa de la corteza. Algunos ejemplos de cómo el estado inicial de activación influye sobre la codificación y detección de estímulos visuales es el denominado “priming of pop out” (PoP) (Maljkovic & Nakayama, 1994, 1996) o la atención directa dirigida hacia un estímulo (Castren & Ungeleider, 2003). En ambos casos, la preactivación del área cortical implicada en la detección del estímulo facilita la activación de la respuesta con mayor eficacia.

Nuestro protocolo implica la realización de un registro previo a la aplicación de los pulsos electromagnéticos, durante el cual el primate se encuentra realizando una tarea de discriminación visual, lo que implica una actividad previa del área cortical superior a la basal. En la mayoría de los protocolos de EMT con tareas de discriminación visual, los pulsos se aplican en el momento en el que el sujeto comienza a realizar la tarea, y no previamente a la misma. Este hecho podría tener como resultado una inhibición más prolongada de las ráfagas, afectando en mayor medida a este tipo de respuesta debido al componente atencional que modula su respuesta.

Un posible factor que contribuye a entender a nivel celular esta falta de recuperación tras la EMT se relaciona con las variaciones que se han descrito en la tasa de liberación de calcio en células de relevo talámicas y del NPG al inhibir la corteza visual mediante EMTr, debidas probablemente a cambios en las conductancias iónicas (LeMasson et al., 1993; Siegel et al., 1994; Giugliano, 2001). Esta disminución en la corriente de calcio también puede ser una posible explicación a la falta de recuperación de la respuesta en ráfagas, al no poder generarse la corriente I_T subyacente a la espiga de calcio de bajo umbral, hecho que afectaría a la respuesta tanto en el NGL como en el NRT (Robinson et al., 1993; Nishimura et al., 1996; William & Stuart, 1999). Otras teorías relacionadas con la influencia del calcio sugieren que los astrocitos desempeñan una importante función en la modulación del patrón de disparo neuronal, regulando la disponibilidad del calcio extracelular (Schummers et al., 2008). Independientemente de la teoría adoptada, la implicación del calcio en la actividad talámica cobra importancia, indicando la existencia de un rol generalizado del mismo como un importante factor en la respuesta celular.

Por otro lado, también se analizó la influencia de la inhibición cortical sobre la resolución de la tarea. Al bloquear V1, se inhibe también la actividad talámica, y la transmisión de información visual se ve afectada, disminuyendo su eficacia, lo cual debería reflejarse a nivel conductual.

Junto con la disminución de la actividad talámica, se produjo un incremento del número de errores al resolver la tarea (aumentando de un 22% en los registros control a un 34% en los registros tras la aplicación de la EMT), coincidiendo con resultados de estudios previos (Pascual-Leone, 2002; Cowey, 2004), los cuales determinaron una disminución de la capacidad de resolución de una tarea visual mientras se aplicaba EMT. Por ello, deducimos que el efecto de la estimulación generó un bloqueo suficiente de la corteza visual primaria, que afectó a la actividad del NGL al inhibirse las aferencias córtico-talámicas. El efecto observado sobre el comportamiento psicofísico no puede ser atribuible únicamente a la afectación cortical ni a la reducción de disparo de las células talámicas, si no que claramente implica a la actividad conjunta del bucle tálamo-córtico-talámico.

Como cabría esperar, la transmisión de información desde el NGL se ve influida por la actividad cortical previa, o dicho en otras palabras, el patrón de disparo de las neuronas corticales afecta a la capacidad de las neuronas de proyección talámicas para generar una respuesta en la corteza durante el procesamiento de información visual (Fries et al., 2007; Womelsdorf et al., 2007).

Por último, se ha demostrado (Cudeiro et al., 2000), que la actividad previa en el NGL determina la eficacia de la transmisión de información a la corteza, pero a su vez la actividad cortical modula la eficacia de dichas aferencias a la hora de generar una respuesta cortical. Por ello, la inhibición de la corteza visual no sólo disminuye la capacidad de procesamiento de información en la propia corteza, sino que influye en la efectividad del tálamo para transmitir dicha información, lo cual se traduce en deficiencia en la percepción e integración de la información visual y consecuentemente, una peor resolución de la tarea visual.

7. CONCLUSIONES

- 1) En el tálamo, y más concretamente en el NGL, existen dos tipos de respuesta neuronal durante estados de alerta: las ráfagas de bajo umbral y las espigas tónicas.
- 2) Ambas respuestas talámicas, tónica y ráfagas, transmiten información a la corteza y participan activamente en el procesamiento de la información visual.
- 3) Las ráfagas constituyen la respuesta talámica encargada de detectar estímulos visuales novedosos, existiendo una relación directa entre el grado de novedad y la respuesta en ráfagas.
- 4) Las ráfagas codifican información acerca de los estímulos visuales a través de sus características intrínsecas (número de espigas, duración de la ráfaga y frecuencia), existiendo una relación directa entre el grado de “novedad” de un estímulo y el número de espigas y/o duración de la ráfaga.
- 5) La aplicación de EMT a bajas frecuencias sobre la corteza visual en animales despiertos produce un efecto compatible con una inhibición de la actividad cortical, que se manifiesta como una disminución de la actividad talámica a través de las aferencias corticales (vía córtico-talámica), afectando en mayor proporción a la respuesta en ráfaga.
- 6) El procesamiento de información visual a través del bucle tálamo-córtico-talámico es un proceso dinámico, existiendo una interacción continua entre ambas estructuras implicadas, NGL y corteza visual primaria, siendo una función del NGL el filtrar y transmitir la información visual eficazmente a la corteza, mientras que ésta modula la transferencia de información desde el tálamo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, L. F., Varela, J. A., Sen, K., & Nelson, S. B. Synaptic depression and cortical gain control. *Science* **10**; 275(5297):220-4 (1997)

Ahmed, B., Anderson, J. C., Douglas, R. J. Martin, K. A. C. & Nelson, J. C. Polyneuronal innervations of spiny stellate neurons in cat visual cortex. *J Comp Neurol* **341**: 39-49 (1994)

Alitto, H. J. & Usrey, W. M. Origin and dynamics of extraclassical suppression in the lateral geniculate nucleus of alert and anesthetized macaque monkeys. *J Physiol* **589**:87-99 (2008)

Alitto, H. J., Bartlett, D. Moore 4th, Rathbun, D. L. & Usrey, M. W. A comparison of visual responses in the lateral geniculate nucleus of alert and anaesthetized macaque monkeys. *J Physiol* **589**:87-99 (2011)

Allen, E. A., Pasley, B. N., Duong, T., Freeman, R. D. Transcranial magnetic stimulation elicits coupled neural and hemodynamic consequences. *Science* **317**:1918-1921 (2007)

Alonso, J. M., Usrey, W. M. & Reid, R. C. Precisely correlated firing in cells of the lateral geniculate nucleus. *Nature* **383**: 815-819 (1996)

Amassian, V. E., Cracco, R. W., Maccabee, P. J., Cracco, J. B., Rudell, A. & Eberle, L. Suppression of visual perception by magnetic coil stimulation of human occipital cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **74**:458-462 (1989)

Andolina, I. M., Jones, H. E., Wang, W. & Sillito, A. M. Corticothalamic feedback enhances stimulus response precision in the visual system. *Proc Natl Acad Sci (USA)* **104**: 1685-1690 (2007)

Arcelli, P., Frasconi, C., Regondi, M. C., De Bassi, S. & Spreafico, R. GABAergic neurons in mammalian thalamus: a marker of thalamic complexity? *Brain Research Bulletin* **42**:27-37 (1997)

Bal, T. & McCormick, D. A. Synchronized oscillations in the inferior olive are controlled by the hyperpolarization-activated cation current I_h . *J Neurophysiol* **77**(6):3145-56 (1997)

Bal, T., Von Krosigk, M. & McCormick, D. A. Synaptic and membrane mechanism underlying synchronized oscillations in the ferret lateral geniculate nucleus in vitro. *J Physiol* **483**:641-663. (1995)

Barker, A. T., Jalinous, R. & Freston, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. **1**: 1106-1107 (1985)

Baró, J. y Alemany, R. "Estadística II". Ed. Fundació per a la Universitat Oberta de Catalunya. Barcelona (2000)

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. *Vis Neurosci* **8**(5):483–486 (1992)

Berardelli, A., Inghilleri, M., Rothwell, J. C., Romeo, S., Currà, A., Gilio, F., Modugno, N. & Manfredi, M. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Exp Brain Res* **122**(1):79-84 (1998)

Betz, W. Anatomischer Nachweis zweier Gehirnzentra. *Zentralb Med Wiss* **12**: 578-580 (1874)

Bialek, W., Rieke, F., de Ruyter van Steveninck, R. R. & Warland, D. Reading a neural code. *Science* **28**; 252 (5014):1854-7 (1991)

Bloomfield, S. A. & Sherman, S. M. Dendritic current flow in relay cells and interneurons of the cat's lateral geniculate nucleus. *Proc Natl Acad Sci (USA)* **86**: 3911-3914 (1989)

Bolognini, N. Miniussi, C., Savazzi, S., Bricolo, E. & Maravita, A. TMS modulation of visual and auditory processing in the posterior parietal cortex. *Exp Brain Res* **195**:509–517 (2009b)

Borst, A. & Haag, J. Effects of mean firing on neural information rate. *J Comput Neurosci* **10**(2):213-21 (2001)

Bourasa, J. & Deschenes, M. Corticothalamic projections from the primary visual cortex in rats: a single fiber study using biocytin as an anterograde tracer. *Neuroscience* **66**:253-263(1995)

Bowery, N. G., Price, G. W., Hudson, A. L., Hill, D. R., Wilkin, G. P. & Turnbull, M. J. GABA receptor multiplicity. Visualization of different receptor types in the mammalian CNS. *Neuropharmacology* **23**:219-231 (1984)

Bowery, N. G., Hudson, A. L. & Price, G. W. GABA_A and GABA_B receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience* **20**: 365-383 (1987)

Brainmaps.org/Macaca-mulatta (Atlas estereotáxico on line)

Brefczynski, J. A., & DeYoe, E. A. A physiological correlate of the "spotlight" of visual attention. *Nat Neurosci* **2**:370-374 (1999)

Brickford, M. E., Gunluk, A. E., Guido, W. & Sherman, S. M. Evidence that cholinergic axons from the parabrachial region of the brainstem are the exclusive source of nitric oxide in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* **334**:410 - 430 (1993)

Briggs, F. & Callaway, E. M. Layer-specific input to distinct cell types in layer 6 of monkey primary visual cortex. *J Neurosci* **21**: 3600- 3608 (2001)

- Briggs, F. & Usrey, W. M. A fast, reciprocal pathway between the lateral geniculate nucleus and visual cortex in the macaque monkey. *J Neurosci* **27**: 5431- 5466 (2007)
- Briggs, F. & Usrey, W. M. Emerging view of corticothalamic function. *Curr Opin Neurobiol* **18**(4):403-407 (2008)
- Briggs, F. & Usrey, W. M. Visual system structure. In *The SAGE Encyclopedia of Perception*, ed. Bruce Goldstein E., pp. 1130-1134. SAGE Publications, Inc., Thousand Oaks, CA, USA. (2009a)
- Briggs, F. & Usrey, W. M. Corticothalamic connections: structure and function. In *Encyclopedia of Neuroscience*, vol. 3, ed. Squire LR 215-219. Academic Press, Oxford. (2009b)
- Briggs, F. & Usrey, W. M. Parallel processing in the corticogeniculate pathway of the macaque monkey. *Neuron* **62**: 135-46 (2009c)
- Briggs, F. & Usrey, W. M. Corticogeniculate feedback and visual processing in the primate. *J Physiol* **589**.1:33-40 (2011)
- Buracas, G. T. & Albright, T. D. Modulation of neuronal responses during covert search for visual feature conjunctions. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 16853-16858 (2009)
- Buracas, G. T., Zador, A. M., DeWeese, M. R. & Albright, T. D. Efficient discrimination of temporal patterns by motion-sensitive neurons in primate visual cortex. *Neuron* **20**(5):959-69 (1998)
- Callaway, E. M. Structure and function of parallel pathways in the primate early visual system. *J Physiol* **566**(Pt 1):13-9 (2005)
- Canedo, A. & Aguilar, J. Spatial and cortical influences exerted on cuneothalamic and thalamocortical neurons of the cat. *Eur J Neurosci* **12**: 2515 – 2533 (2000)
- Carden, W. B. & Bickford, M. E. Synaptic inputs of class III and class V interneurons in the cat pulvinar nucleus: differential integrations of RS and RL inputs. *Vis Neurosci* **19**:51-59 (2002)
- Casagrande, V. A. The afferent, intrinsic, and efferent connections of primary visual cortex in primates. In *Cerebral Cortex*, eds. Peters, A., & Rockland, K. S., pp. 201-259. Plenum, New York (1994)
- Casagrande, V. A. & Kaas, J. H. The afferent, intrinsic, and efferent connections of primary visual cortex in primates. In *Cerebral Cortex*, eds. Peters, A. & Rockland, K. S. pp 201-259. Plenum, New York. (1994)
- Casagrande, V. A., Sary, G., Royal, D., & Ruiz, O. On the impact of attention and motor planning on the lateral geniculate nucleus. *Prog Brain Res* **149**: 11-29 (2005)
- Castros-Alamancos, M. A. & Oldford, E. Cortical sensory suppression during arousal is due to the activity-dependent depression of thalamocortical synapses. *J Physiol* **15**; 541(Pt 1):319-31 (2002)

- Chalupa, L. M. & Thompson, I. D. Retinal ganglion cell projections to the superior colliculus of the hamster demonstrated by the horseradish peroxidase technique. *Neuroscience Letters* **19**:13-19 (1980)
- Chen, R., Classen, J., Gerloff, C., Celnik, P., Wassermann, E. M., Hallett M. & Cohen, L. G. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* **48**: 1398-1403 (1997)
- Chen, Y., Martínez-Conde, S. Macknik, S. L., Bereshpolova, Y., Swadlow, H. A., & Alonso, J. M. Task difficulty modulates the activity of specific neuronal populations in primary visual cortex. *Nat Neurosci* **11**: 974-982 (2008)
- Chung, S., Li, X. & Nelson, S. B. Short-term depression at thalamocortical synapses contributes to rapid adaptation of cortical sensory responses in vivo. *Neuron* **34**:437-446 (2002)
- Cleland, B. G. & Levick, W. R. Properties of rarely encountered types of ganglion cells in the cat's retina and an overall classification. *J Physiol* **240**(2):457-92 (1974)
- Cleland, B. G. & Lee, B. B. Comparison of visual responses of cat lateral geniculate nucleus neurones with those of ganglion cells afferent to them. *J. Physiol. (Lond.)* **369**: 249-268 (1985)
- Cleland, B. G., Dubin, M. W. & Levick, W. R. Sustained and transient neurones in the cat's retina and lateral geniculate nucleus. *J Physiol (Lond.)* **217**: 473-496 (1971)
- Conley, M. & Raczkowski, D. Sublaminar organization within layer V1 of the striate cortex in Galago. *J Comp Neurol* **302**:425-436 (1990)
- Coulter, D. A., Huguenard, J. R. & Prince, D. A. Calcium currents in rat thalamocortical relay neurones: kinetic properties of the transient, low-threshold current. *J Physiol* **414**:587-604 (1989)
- Cowey, A. The Ferrier lecture 2004 what can transcranial magnetic stimulation tell us about how the brain works? *Philos Trans R Soc Lon B Biol Sci* **360**: 1185- 1205 (2005)
- Cox, C. L. & Sherman, S. M. Control of dendritic outputs of inhibitory interneurons in the lateral geniculate nucleus. *Neuron* **27**: 597-610 (2000)
- Cox, C. L., Zhou, Q. & Sherman, S. M. Glutamate locally activates dendritic outputs of thalamic interneurons. *Nature* **394**:478-482 (1998)
- Crick, F. Function of the thalamic reticular complex: the searchlight hypothesis. *Proc Natl Acad Sci* **81**:4586-4590 (1984)
- Cruikshank, S. J., Urabe, H., Numikko, A.V. & Connors, B. W. Pathway-specific feedforward circuits between thalamus and neocortex revealed by selective optical stimulation of axons. *Neuron* **65**: 230-245 (2010)

- Cudeiro, J. & Rivadulla, C. Sight and insight on the physiological role of nitric oxide in the visual system. *Trends Neurosci* **22**:109-116 (1999)
- Cudeiro, J. & Rivadulla, C. El tálamo: una puerta dinámica a la percepción. *Rev Neurol* **34** (2): 121-130 (2002)
- Cudeiro, J. & Sillito, A. M. Spatial frequency tuning of orientation-discontinuity-sensitive corticofugal feedback to the cat lateral geniculate nucleus. *J Physiol (Lond.)* **490**: 481-492 (1996)
- Cudeiro, J. & Sillito, A. M. Looking back: corticothalamic feedback and early visual processing. *TRENDS in Neurosci* **29**(6): 298-306 (2006)
- Cudeiro, J., Rivadulla, C., Rodríguez, R., Martínez-Conde, S., Martínez, L., Grieve, K. L. & Acuña, C. Further observations on the role of nitric oxide in the feline lateral geniculate nucleus. *Eur J Neurosci* **8**: 144-152 (1996)
- Cudeiro, J., Rivadulla, C. & Grieve, K. L. Visual response augmentation in cat (and macaque) LGN: potentiation by corticofugally mediated gain control in the temporal domain. *Eur J Neurosci* **12**(4):1135-1144 (2000)
- Curró Dossi, R., Paré, D. & Steriade M. Various types of inhibitory postsynaptic potentials in anterior thalamic cells are differentially altered by stimulation of laterodorsal tegmental cholinergic nucleus. *Neuroscience* **47**: 279-289 (1992)
- D'Arsonval, A. Dispositifs pour la mesure des courants alternatifs de toutes frequences. *C S Soc Bid (Paris)* **21**: 450-451(1896)
- Da Costa, N. M. & Martin, K. A. Selective targeting of the dendrites of corticothalamic cells by thalamic afferents in area 17 of the cat. *J Neurosci* **29**: 13919-13928 (2009)
- Dacey, M. D. The mosaic of the middle ganglion cell in the human retina. *J Neurosci* **13**: 5334-5355 (1993a)
- Dacey, M. D. Parallel pathways for spectral coding in primate retina. *Ann Rev Neurosci* **23**:743-775 (2000)
- Dacey, M. D. & Petersen, M. R. Dendritic field size and morphology of midget and parasol ganglion cells of the human retina. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 9666-9670 (1992).
- De Labra, C., Rivadulla, C., Grieve, K., Mariño, J., Espinosa, N. & Cudeiro, J. Changes in visual responses in the feline dLGN: selective thalamic suppression induced by transcranial magnetic stimulation of V1. *Cereb Cortex* **17**: 1376-1385 (2007)
- De Lima, A. D. & Singer, W. The serotonergic fibers in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat: distribution and synaptic connections demonstrated with immunocytochemistry. *J Comp Neurol* **258**: 339-351(1987a)

De Lima, A. D. & Singer, W. The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat: identification of cholinergic and monoaminergic elements. *J Comp Neurol* **259**: 92-121 (1987b)

De Lima, A. D., Montero, V. M. & Singer, W. The cholinergic innervation of the visual thalamus: an EMT immunocytochemical study. *Exp Brain Res* **59**:206-212 (1985)

De Monasterio, F. M. Properties of concentrically organized X and Y ganglion cells of macaque retina. *J Neurophysiol* **41**:1394-1417 (1978a)

De Monasterio, F. M. Center and surround mechanisms of opponent-color X and Y ganglion cells of retina of macaques. *J Neurophysiol* **41**:1418-1434(1978b)

De Monasterio, F. M. & Gouras, P. Functional properties of ganglion cells of the rehsus monkey retina. *J Physiol (Lond)* **251**: 167-195 (1975)

De Monasterio, F. M., Gouras, P. & Tolhurst, D. J. Trichromatic color opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. *J Physiol (Lond)* **251**:197-216 (1975a)

De Monasterio, F. M., Gouras, P. & Tolhurst, D. J. Concealed colour opponency in ganglion cells of the rhesus monkey retina. *J Physiol (Lond)* **251**:217-229 (1975b)

Derrington, A. M. & Lennie, P. The influence of temporal frequency and adaptation level on receptive field organization of retinal ganglion cells in cat. *J Physiol (Lond.)* **333**: 343-366 (1982)

Derrington, A. M., Krauskopf, J. & Lennie, P. Chromatic mechanisms in lateral geniculate nucleus of macaque. *J Physiol* **357**: 241–265 (1984)

Deschênes, M. & Steriade M. The thalamus as a neuronal oscillator. *Brain Res* **320**(1):1-63 (1984)

Deschênes, M., Madariaga-Domich, A. & Steriade M. Dendrodendritic synapses in the cat reticularis thalami nucleus: a structural basis for thalamic spindle synchronization. *Brain Res* **334**: 165-168 (1985)

Desimone, R & Duncan, J. Neural mechanisms of selective visual attention. *Annu Rev Neurosci* **18**:193-222 (1995)

Destexhe, A., Contreras, D. & Steriade, M. Mechanisms underlying the synchronizing action of corticothalamic feedback through inhibition of thalamic relay cells. *J Neurophysiol* **79**:999-1016 (1998a)

Dreher, B., Fukuda, Y. & Rodieck, R. W. Identification, classification and anatomical segregation of cells with X-like and Y-like properties in the lateral geniculate nucleus of old-world primates. *J Physiol* **258**(2): 433–452 (1976)

Dugué, L., Marqué, P. & VanRullen, R. Transcranial Magnetic Stimulation reveals attentional feedback to area V1 during serial visual research. *PLoS One* **6**(5) (2011)

- Edeline, J. M., Manunta, Y. & Hennevin, E. Auditory thalamus neurons during sleep: changes in frequency, selectivity, threshold, and receptive field size. *J Neurophysiol* **84**: 934-952 (2000)
- Enroth-Cugell, C. & Robson, J. G. The contrast sensitivity of retinal ganglion cells of the cat. *J Physiol* **187**: 517-582 (1966)
- Erişir, A., Van Horn, S. C., Bickford, M. E. & Sherman, S. M. Immunocytochemistry and distribution of parabrachial terminals in the lateral geniculate nucleus of the cat: a comparison with corticogeniculate terminals. *J Comp Neurol* **377**: 535-549 (1997a)
- Erişir, A., Van Horn, S. C. & Sherman, S. M. Relative numbers of cortical and brainstem inputs to the lateral geniculate nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**:1517-1520 (1997b)
- Esguerra, M. & Sur, M. Spike trains and signaling modes of neurons in the ferret lateral geniculate nucleus. *Exp Brain Res* **96** (2):273-86 (1993)
- Espinosa, N., de Labra, C., Rivadulla, C., Mariño, J., Grieve, K. G. & Cudeiro, J. Effects on EEG of Low (1Hz) and High (15Hz) Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation of the Visual Cortex: A Study in the Anesthetized Cat. *The Open Neuroscience Journal* **1**: 25-30 (2007)
- Espinosa, N., Mariño, J., de Labra, C. & Cudeiro, J. Cortical modulation of the transient visual response at thalamic level: a TMS study. *PLoS One* **10**; 6(2):e17041 (2011)
- Famiglietti, E. V. J. & Peters, A. The synaptic glomerulus and the intrinsic neuron in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* **390**:247-255 (1972)
- Field, G. D. & Chichilnisky, E. J. Information processing in primate retina: circuitry and coding. *Annu Rev Neurosci* **30**: 1 - 30 (2007)
- Fitzpatrick, D., Conley, M., Luppino, G., Matelli, M. & Diamond, I.T. Cholinergic projections from the midbrain reticular formation and the parabrachial nucleus to the lateral geniculate nucleus in the tree shrew. *J Comp Neurol* **272**:46-67 (1988)
- Fitzpatrick, D., Usrey, W. M., Schofield, B. R. & Einstein, G. The sublamina organization of neurons in layer 6 of macaque striate cortex. *Vis Neurosci* **11**:307-315 (1994)
- Fries, P., Reynolds, J. H., Rorie, A. E. & Desimone, R. Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. *Science* **291** (5508):1560-3 (2001)
- Frost, W. W. & Hamm, T. E. Jr. Prevention and control of animal disease. In: Rollin, B.E., ed. *The experimental animal in biomedical research*. Boca Raton, FL: CRC Press, **1**: 133-1 (1990)
- Funke, K. & Wörgötter, F. Temporal structure in the light response of relay cells in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Physiol (Lond.)* **485** : 715-737 (1995)

Funke, K. & Wörgötter, F. On the significance of temporally structured activity in the dorsal lateral geniculate nucleus (LGN). *Prog Neurobiol* **53**: 67-119 (1997)

Funke, K., Pape, H. C. & Eysel, U. T. Noradrenergic modulation of retinogeniculate transmission in the cat. *J Physiol* **463**:169-191 (1993)

Funke, K., Nelle, E., Li, B. & Worgotter, F. Corticofugal feedback improves the timing of retino-geniculate signal transmission. *Neuroreport* **7**:2130-2134 (1996)

Garthwaite, J. & Boulton, C. L. Nitric oxide signalling in the central nervous system. *Anna Rev Physiol* **57**:683-706 (1995)

Giugliano, M. Electrophysical activity to cell metabolism signal transduction: possible feedback regulatory biochemical pathways. *Neurocomputing* 38-40, 23-30 (2001)

Godwin, D. W., Van Horn, S. C., Erişir, A., Sesma, M., Romano, C. & Sherman, S. M. Ultrastructural localization suggests that retinal and cortical inputs access different metabotropic glutamate receptors in the lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* **16**: 8181-8192 (1996a)

Godwin, D. W., Vaughan, J. W. & Sherman, S. M. Metabotropic glutamate receptors switch visual response mode of lateral geniculate nucleus cells from burst to tonic. *J Neurophysiol* **76**:1800-1816 (1996b)

Gouras, P. Identification of cone mechanisms in monkey ganglion cells. *J Physiol* **199**(3):533-47 (1968)

Granseth, B., Ahlstrand, E. & Lindström, S. Paired pulse facilitation of corticogeniculate EPSCs in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat investigated in vitro. *J Physiol* **15**:544(Pt 2):477-86 (2002)

Ghazanfar, A. A., Krupa, D. J. & Nicolelis, M.A. Role of cortical feedback in the receptive field structure and nonlinear response properties of somatosensory thalamic neurons. *Exp Brain Res* **141**(1):88-100 (2001)

Green, D. M. & Swet, J. A. *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Wiley, New York (1966)

Grieve, K. L. & Sillito, A. M. Differential properties of cells in the feline primary visual cortex providing the corticofugal feedback to the lateral geniculate nucleus and visual claustrum. *J Neurosci* **15**: 4868-4874 (1995)

Grieve, K. L., Rivadulla, C. & Cudeiro, J. Mixed burst and tonic firing in the thalamus: A study in the feline lateral geniculate nucleus in vivo. *Brain Res* **1273**: 48-57 (2009)

Grubb, M. S. & Thompson, I. D. Visual response properties of burst and tonic firing in the mouse dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* **93**: 3224-3247 (2005)

- Guido, W. & Weyand, T. Burst responses in thalamic relay cells of the awake behaving cat. *J Neurophysiol* **74**: 1782-1786 (1995)
- Guido, W., Lu, S. M. & Sherman S. M.: Relative contributions of burst and tonic responses to the receptive field properties of lateral geniculate neurons in the cat. *J Neurophysiol* **68**: 2199-2211 (1992)
- Guido, W., Lu, S. M., Vaughan, J. W., Godwin, D. W. & Sherman, S. M. Receiver operating characteristic (ROC) analysis of neurons in the cat's lateral geniculate nucleus during tonic and burst response mode. *Visual Neurosci* **12**: 723-741 (1995)
- Guillery, R. W. A study of Golgi preparations from the dorsal lateral geniculate nucleus of the adult cat. *J Comp Neurol* **128**: 21 – 50 (1966)
- Guillery, R. W. The organization of synaptic interconnections in the laminae of the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Zeitschrift für Zell forschung* **96**:1-38 (1969a)
- Guillery, R. W. A quantitative study of synaptic interconnections in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Zeitschrift für Zell forschung* **96**:39-48 (1969b)
- Gutierrez, C., Cox, C. L., Rinzel, J. & Sherman, S. M. Dynamics of Low-Threshold Spike Activation in Relay Neurons of the Cat Lateral Geniculate Nucleus. *J Neurosci* **21**(3): 1022-1032 (2001)
- Hallett, M. Transcranial magnetic stimulation: A primer. *Neuron* **55**:187-199 (2007)
- Hamos, J. E., Van Horn, S. C., Raczkowski, D. & Sherman, S. M. Synaptic circuitry of an individual retinogeniculate axon from a retinal Y-cell. *J Comp Neurol* **259**:165-192 (1987)
- Hawken, M. J., Parker, A. J. & Lund, J. S. Laminar organization and contrast sensitivity of direction-selective cells in the striate cortex of the Old World monkey. *J Neurosci* **8**(10):3541-8 (1988)
- Hendrickson, A. E., Wilson, J. R. & Ogren, M. P. The neuroanatomical organization of pathways between the dorsal lateral geniculate nucleus and visual cortex in the old world and new world primates. *J Comp Neurol* **182**: 123-136 (1978)
- Hendry, S. H. & Calkins, D. J. Neuronal chemistry and functional organization in the primate visual system. *Trends in Neurosci* **21**: 344-349 (1998)
- Hendry, S. H. & Reid, R. C. The koniocellular pathway in primate vision. *Ann Rev Neurosci* **23**:127-153 (2000)
- Hernández-Cruz, A. & Pape H. C. Identification of two calcium currents in acutely dissociated neurons from the rat lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* **61**(6):1270-83 (1989)
- Hicks, T. P., Lee, B. B. & Vidyasagar, T.R. The responses of cells in macaque lateral geniculate nucleus to sinusoidal gratings. *J Physiol* **337**: 183- 200 (1983)

Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol (Lond.)* **117**: 500-544 (1952)

Hu, B., Steriade, M. & Deschênes, M. The effects of brainstem peribrachial stimulation on neurons of the lateral geniculate nucleus. *Neuroscience* **31**(1):13-24 (1989a)

Hubel, D. H. Single unit activity in lateral geniculate body and optic tract of unrestrained cats. *J Physiol* **150**: 91-104 (1960)

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *J Physiol* **148**: 574-591 (1959)

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. Integrative action in the cat's lateral geniculate body. *J Physiol* **155**:385-398 (1961)

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. Spatial and chromatic interactions in the lateral geniculate body of the rhesus monkey. *J Neurophysiol* **29**(6):1115-1156(1966)

Huerta, P. T. & Volpe, B. T. Transcranial magnetic stimulation, synaptic plasticity and network oscillations. *J Neuroeng Rehabil* **6**:7. doi: 10.1186/1743-0003-6-7 Epub (2009) Review.

Ichida, J. M. & Casagrande, V. A. Organization of the feedback pathway from striate cortex (V1) to the lateral geniculate nucleus (LGN) in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *J Comp Neurol* **454** (3): 272-284 (2002)

Ipata, A. E., Gee, A. L., Bisley, J. W. & Goldberg, M. E. Neurons in the lateral intraparietal area create a priority map by the combination of disparate signals. *Exp Brain Res* **192**:479-488 (2009)

Ito, M. & Gilbert, C. D. Attention modulates contextual influences in the primary visual cortex of alert monkeys. *Neuron* **22**: 593-604 (1999)

Jahnsen, H. & Llinás, R. Electrophysiological properties of guinea-pig thalamic neurones: an in vitro study. *J Physiol (Lond.)* **349**, 205-226 (1984a)

Jahnsen, H. & Llinas, R. Ionic basis for the electroresponsiveness and oscillatory properties of guinea pig thalamic neurones in vitro. *J Physiol (Lond)* **349**: 227-247 (1984b)

Jhaveri, S., Edwards, M. A., & Schneider, G. E. Initial stages of retinofugal axon development in the hamster: evidence for two distinct modes of growth. *Exp Brain Research* **87**:371-382 (1991)

Jones, E. G. Varieties and distribution of non pyramidal cells in the somatic sensory cortex of the squirrel monkey. *J Comp Neurol* **160**:205-268 (1975)

Jones, H., E., Andolina, I. M., Oakely, N. M., Murphy, P. Co & Sillito, A. M. Spatial summation in lateral geniculate nucleus and visual cortex. *Exp Brain Res* **135**:279-284 (2000)

- Juan, C. H. & Walsh, V. Feedback to V1: a reverse hierarchy in vision. *Exp Brain Res* **150**(2):2 59-63 (2003)
- Kaplan, E. & Shapley, R. M. X and Y cells in the lateral geniculate nucleus of macaque monkeys. *J. Physiol* **330**:125-143 (1982)
- Kaplan, E. & Shapley, R. M. The primate retina contains two types of ganglion cells, with high and low contrast sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **83**(8): 2755–2757 (1986)
- Kastner, S. & Ungerleider, L. G. Mechanism of human attention in the human cortex. *Annu Rev Neurosci* **23**:315-341 (2003)
- Kisvarday, Z. F., Cowey, A. & Somogyi, P. Synaptic relationship of a type of GABA-immunoreactive neuron (clutch cell), spiny stellate cells and lateral geniculate nucleus afferents in layer IVc of the monkey striate cortex. *Neuroscience* **19**: 741-761 (1986)
- Kolb, H., Linberg, K. & Fisher, S. K. Neurons of the human retina: A Golgi study. *J Comp Neurol* **318**:147-187 (1992)
- Kölliger, A. Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 2. Band. 2. Hälfte., Nervensystem des Menschen und der Thiere. **VIII**: 373-874 (1896)
- Kosslyn, S. M., Pascual-Leone, A., Felician, O., Camposano, S., Keenan, J. P., Thompson, W. L., Ganis, G., Sukel, K. E., & Alpert, N. M. The role of area 17 in visual imagery: convergent evidence from PET and rTMS. *Science* **284**(5411): 167-70 (1999)
- Kremers, J. The primate visual system: A comparative approach. *John Wiley and Sons* (2005)
- Krupa, D. J., Ghazanfar, A. A. & Nicolelis, M. A. Immediate thalamic sensory plasticity depends on corticothalamic feedback. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**(14):8200-5 (1999)
- Kuffler, S. W. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J Neurophysiol* **16**: 37-58 (1953)
- Kujirai, T., Caramia, M. D., Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., Ferbert, A., Wroe, S., Asselman, P. & Marsden, C. D. Cortico-cortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol* **471**: 501-519 (1993)
- Lam, Y. W. & Sherman, S. M. Functional organization of the somatosensory cortical layer 6 feedback to the thalamus. *Cereb Cortex* **20**:13-24 (2010)
- Landisman, C. E. & Connors, B. W. VPM and PoM nuclei of the rat somatosensory thalamus intrinsic neuronal properties and corticothalamic feedback. *Cereb Cortex* **17**:2853-2865
- LeMasson, G. Marder, E. & Abbott, L. F. Activity-dependent regulation of conductances in model neuron. *Science* **259**:1915-1917 (1997)

- Lennie, P. Parallel visual pathways: a review. *Vision Res* **20**: 561-594 (1980).
- Leresche, N., Lightowler, S., Soltesz, I., Jassik-Gerschenfeld, D. & Crunelli, V. Low-frequency oscillatory activities intrinsic to rat and cat thalamocortical cells. *J. Physiol* **441**:151-174 (1991)
- Lesica, N. A. & Stanley, G. B. Encoding of natural scene movies by tonic and burst spikes in the lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* **24**(47):10731-40 (2004)
- LeVay, S. Synaptic patterns of the visual cortex of the cat and monkey: electron microscopy of Golgi preparations. *J Comp Neurol* **150**: 53-86 (1973)
- LeVay, S. & Fester, D. Proportion of interneurons in the cat's lateral geniculate nucleus. *Brain Res* **164**:304-308 (1979)
- Levick, W. R., Cleland, B. G. & Dubin, M. W. Lateral geniculate neurons of cat: retinal inputs and physiology. *Invest Ophthalmol* **11**:302-311 (1972)
- Levitt, J. B., Schumer, R. A., Sherman, S. M., Spear, P. D. & Movshon, J. A. Visual response properties of neurons in the LGN of normally reared and visually deprived macaque monkeys. *J Neurophysiol* **85**:2111-2129 (2001)
- Lewis, W. B. On the comparative structure of the cortex cerebri. *Brain* **1**: 78-86 (1878)
- Li, L. & Ebner, F. F. Balancing bilateral sensory activity: callosal processing modulates sensory transmission through the contralateral thalamus by altering the response threshold. *Exp Brain Res* **172**(3):397-415 (2006)
- Li, J., Guido, W. & Bickford, M. E. Distinct firing properties of higher order thalamic relay neurons. *J. Physiol* **90**:291-299 (2003a)
- Lin, V. W. H., Hsiao, I. N. & Dhaka, V. Magnetic coil design considerations for functional magnetic stimulation. *IEEE Trans Biomed Eng* **47**(5):600-610 (2000)
- Linden, R., & Perry, V. H. Massive retinotectal projection in rats. *Brain Res* **272**:145-149 (1983)
- Lisman, J. E. Bursts as a unit of neural information: making unreliable synapses reliable. *Trends Neurosci* **20**: 38-43 (1997)
- Livingstone, M. S. & Hubel, D. H. Effects of sleep and arousal on the processing of visual information in the cat. *Nature* **291**, 554-561 (1981)
- Livingstone, M. S. & Hubel, D. H. Psychophysical evidence for separate channels for the perception of form, color, movement, and depth. *J Neurosci* **7**: 3416 -3468. (1987)

- Lo, F-S., Lu, S. M. & Sherman, S. M. Intracellular and extracellular in vivo recording of different response modes for relay cells of the cat's lateral geniculate nucleus. *Exp Brain Res* **83**:317-328 (1991)
- Lu, S. M., Guido, W. & Sherman, S. M. Effects of membrane voltage on receptive field properties of lateral geniculate neurons in the cat: contributions of the low-threshold Ca²⁺ conductance. *J Neurophysiol* **68**: 2185 – 2198 (1992)
- Lu, S. M., Guido, W. & Sherman, S. M. The brainstem parabrachial region controls mode of response to visual stimulation of neurons in the cat's lateral geniculate nucleus. *Vis Neurosci* **10**:631-642 (1993)
- Luck, S. J., Chelazzi, L., Hillyard, S. A. Desimone, R. Neural mechanisms of spatial selective attention in areas V1, V2 and V4 of macaque visual cortex. *J Neurophysiol* **77**: 24-42 (1997)
- Lund, J. S. Organization of neurons in the visual cortex, area 17, of the monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol* **147**: 455-496 (1973)
- Lund, J. S. & Boothe, R. Interlaminar connections and pyramidal neuron organization in the visual cortex, area 17, of the macaque monkey. *J Comp Neurol* **159**: 305-334 (1975)
- Lund, J. S., Lund, R. D., Hendrickson, A. E., Bunt, A. H. & Fuchs, A. F. The origin of efferent pathways from the primary visual cortex, area 17, of the macaque monkey as shown by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* **164**:287-303 (1975)
- Macmillan, N. A., & Creelman, C. D. Detection Theory: A User's Guide. *Cambridge University Press*, Cambridge, England. (1991)
- Maeda, F., Keenan, J. P., Tormos, J. M., Topka, H. & Pascual-Leone, A. Interindividual variability of modulatory effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cortical excitability. *Exp Brain Res* **133**: 425-443 (2000a)
- Maeda, F., Keenan, J. P., Tormos, J. M., Topka, H. & Pascual-Leone A. Modulation of corticospinal excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* **111**: 800-805 (2000b)
- Maljkovic, V. & Nakayama, K. Priming of pop-out: I. Role of features *Mem & Cogn* **22** (6):657-672 (1994)
- Maljkovic, V. & Nakayama, K. Priming of pop-out: II The role of position. *Percept & Psycho* **58**(7): 977-991 (1996)
- Marcus, D. S. & Van Essen, D. C. Scene segmentation and attention in primate cortical areas V1 and V2. *J Neurophysiol* **8**:2648-2658 (2002)

- Marrocco, R. T., McClurkin, J. W. & Alkire, M. T. The influence of the visual cortex on the spatiotemporal response properties of lateral geniculate nucleus cells. *Brain Res* **737**: 110-188 (1996)
- Martin, P. R., Lee, B. B., White, A. J. R., Chromatic sensitivity of ganglion cells in the peripheral primate retina. *Nature* **410**:933-936 (2001)
- Mastronade, D. N. Two classes of single-input X-cell in cat lateral geniculate nucleus. I Receptive fields properties and classification of cells. *J Neurophysiol* **57**:357-380 (1987a)
- Maunsell, J. H. R. & Cook, E. P. The role of attention in visual processing. *Phil Trans R Soc Lond* **B357**: 1063-1072 (2002)
- McAdams, C.J. & Maunsell J.H. Effects of attention on the reliability of individual neurons in monkey visual cortex. *Neuron* **23**:765-773 (1999)
- McAdams, C. J. & Maunsell J. H. Attention to both space and feature modulates neuronal responses in macaque area V4. *J Neurophysiol* **83**:1751-1755 (2000)
- McAdams, C. J. & Reid, C. Attention modulates the responses of simple cells in monkey primary visual cortex. *J Neurosci* **25 (47)**: 11023-11033 (2005)
- McAlonan, K., Cavanaugh, J., Wurtz, R. H. Guarding the gateway to cortex with attention in visual thalamus. *Nature* **456**: 391-395 (2008)
- McCarley, R. W., Benoit, O. & Barrionuevo, G. Lateral geniculate nucleus unitary discharge in sleep and waking: state- and rate-specific aspects. *J Neurophysiol* **3**:2563-2586 (1983)
- McClurkin, J. W. Optican, L. M. & Richmond, B. J. Cortical feedback increases visual information transmitted by monkey parvocellular lateral geniculate nucleus neurons. *Vis Neurosci* **11**:601-617 (1994)
- McCormick, D. A. Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. *Trends Neurosci* **12**:215-221 (1989)
- McCormick, D. A. Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog Neurobiol* **39**: 337-388 (1992)
- McCormick, D. A. & Pape, H. C. Acetylcholine inhibits identified interneurons in the cat lateral geniculate nucleus. *Nature* **334**: 246-248 (1988)
- McCormick, D. A. & Prince, D. A. Actions of acetylcholine in the guinea-pig and cat medial and lateral geniculate nuclei, in vitro. *J Physiol* **392**:147-165 (1987)
- McCormick, D. A. & Feese, H. R. Functional implications of burst firing and single spike activity in lateral geniculate relay neurons. *Neuroscience*. **39**(1):103-13 (1990)

- McCormick, D. A. & Von Krosigk, M. Corticothalamic activation modulates thalamic firing through glutamate "metabotropic" receptors. *Proc Natl Acad Sci (USA)* **89**: 2774-2778 (1992)
- McCormick, D. A. & Bal, T. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci* **20**: 185-215 (1997)
- McPeck R. M. & Keller, E. L. Superior colliculus activity related to concurrent processing of saccade goals in a visual search task. *J Neurophysiol* **87**:1805-1815 (2002b)
- Merabet, L. B., Theoret, H. & Pascual-Leone, A. Transcranial magnetic stimulation as an investigative tool in the study of visual function. *Optometry and Vision Science* **80**: 356-368 (2003)
- Merigan, W. H. & Maunsell, J. H. How parallel are the primate visual pathways? *Ann Rev Neurosci* **16**: 369-402 (1993)
- Merton, P. A. & Morton, H. B. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 285-227 (1980)
- Meynert, T. H. Von Gehirne der Säugethiere. In Stricker S, ed. Handbuch der Lehre von der Geweben des Menschen und der Thiere. Vol. 2. Leipzig: Ed. Wilhelm Engelmann; 1869-1872. P. 694-808
- Moliadze, V., Zhao, Y., Eysel, U. & Funke, K. Effect of transcranial magnetic stimulation on single-unit activity in the cat primary visual cortex. *J Physiol (Lond.)* **553**: 665-679 (2003)
- Montero, V. M. The interneural nature of GABAergic neurons in the lateral geniculate nucleus of the rhesus monkey: a combined HRP and GABA-immunocytochemical study. *Exp Brain Res* **64**: 615-622 (1986)
- Montero, V. M. & Zempel, J. Evidence for two types of GABA-containing interneurons in the A-laminae of the cat lateral geniculate nucleus: a double-label HRP and GABA-immunocytochemical study. *Exp Brain Res* **60**: 603-609 (1985)
- Motter, B. C. Focal attention produces spatially selective processing in visual cortical areas, V1, V2 and V4. *J Neurosci* **19**: 431-441 (1993)
- Mowshon, J. A., Kiorpes, L., Hawken, M. J. & Cavanaugh, J. R. Functional maturation of the macaque's lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* **25**: 2712-2722 (2005)
- Muellbacher, W., Ziemann, U., Boroojerdi, B. & Hallett, M. Effects of low frequency TMS on motor excitability and basic motor behaviour. *Clin Neurophysiol* **111**: 1002 – 1007 (2000)
- Mukherjee, P. & Kaplan, E. Dynamics of neurons in the cat lateral geniculate nucleus: in vivo electrophysiology and computational modeling. *J Neurophysiol* **74**: 1222-1243 (1995)

- Murphy, P. C. & Sillito, A. M. Corticofugal feedback influences the generation of length tuning in the visual pathway. *Nature* **329**: 727-729 (1987)
- Nassi, J. J. & Callaway, E. M. Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat Rev Neurosci* **10**: 360-372 (2009)
- Nicoletis, M. A. L. & Fanselow, E. E. Dynamic shifting in thalamocortical processing during different behavioural states. *Phil Trans Roy Soc London. Series B. Biological Science.* **357**: 1753-1758 (2002)
- Nishimura, Y., Asahi, M., Saitoh, K., Kitagawa, H., Itoh, K., Lin, M., Akamine, T., Shibuya, H. & Asahara, T. et al. The burst firing in the layer III and V pyramidal neurons of the cat sensorimotor cortex in vitro. *Brain Research* **727** (1-2), 212-216 (1996).
- Nolt, M. J., Kumbhani, R. D. & Palmer, L. A. Suppression at high spatial frequencies in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J Neurophysiol.* **98**(3):1167-80 (2007)
- Nowak, L. G., Munk, M. H., Girard, P. & Bullier, J. Visual latencies in areas V1 and V2 of the macaque monkey. *Vis Neurosci* **12**: 371-384 (1995)
- O'Connor, D. H., Fukui, M. M., Plnsk, M. A. & Kastner, S. Attention modulates responses in the human lateral geniculate nucleus. *Nature Neurosci* **5**: 1203-1209 (2002)
- O'Keefe, L., Levitt, J.B., Kiper, D. C., Shapley, R. M. & Movshon, J. A. Functional organization of owl monkey lateral geniculate nucleus and visual cortex. *J Neurophysiol* **80**: 594-609 (1998)
- Parzen, E. On estimation of a probability density function and mode. *Ann Math Statist* **33**:1065-1076 (1962)
- Pascual-Leone, A., Valls-Sole, J., Wassermann, E. M. & Hallett M. Responses to rapid rate TMS of the human motor cortex. *Brain Res* **117**: 847-858 (1994)
- Pascual-Leone, A., Tormos, J. M., Keenan, J., Tarazona, F., Cañete, C. & Catalá, M. D. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol* **15**: 333-343 (1998)
- Pascual-Leone, A., Davey, N., Rothwell, J., Wassermann, E. M. & Puri, B. K. Handbook of Transcranial Magnetic Stimulation London: Hodder Arnold (2002)
- Pearson, J. C. & Haines, D. E. Somatosensory thalamus of a prosimian primate (*Galago senegalensis*). II. An HRP and Golgi study of the ventral posterolateral nucleus (VPL). *J Comp Neurol* **190**: 559-580 (1980)
- Peluffo, H. Layers of cerebral cortex. www.wesapiens.org (2012)
- Perry, V. H. & Cowey, A. Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. *Neuroscience* **12**: 1125-1137 (1984)

- Posner, M. I. Orienting of attention. *Q F Exp Psychol* **32**:3-25 (1980)
- Radhakrishmana, V., Tsoukatos, J., Davis, K. D., Tasker, R. R: Lozano, A. M. & Dostrovsky, J. O. A comparison of the burst activity of lateral thalamic neurons in chronic pain and non-pain patients. *Pain* **80**: 567-575 (1999)
- Ralston, H. J. Evidence for presynaptic dendrites and a proposal for their mechanism of action. *Nature* **230**: 585-587 (1971)
- Ramcharan, E. J., Gnadt, J. W., Sherman, S. M. Burst and tonic firing in thalamic cells of unanesthetized behaving monkeys. *Vis Neurosci* **17**:55-62 (2000)
- Ramcharan, E. J., Cox, C. L., Zhan, X. J., Sherman, S.M & Gnadt, J. W. Cellular Mechanisms Underlying Activity Patterns in the Monkey Thalamus During Visual Behavior. *J Neurophysiol* **84**(4) 1982-1987 (2000)
- Ramcharan, E. J., Gnadt, J. W., Sherman, S. M. Single-unit recording in the lateral geniculate nucleus of the awake behaving monkey. *Methods* **30**:142-151 (2003)
- Ramón y Cajal, S. Histologie du systeme nerveux d'l homme et des vertébrés. Vol. **2**. Paris. Ed. Maloine (1911)
- Reichova. I. & Sherman, S. M. Somatosensory corticothalamic projections: distinguishing drivers from modulators. *J Neurophysiol* **92**(4):2185-97 (2004)
- Reinagel, P., Godwin, D., Sherman, S. M. & Koch C. Encoding of visual information by LGN bursts. *J Neurophysiol* **81**: 2558-2569 (1999)
- Ress, D., Backus, B. T. & Heeger, D. J. Activity in primary visual cortex predicts performance in a visual detection task. *Nat Neurosci* **3**:940-945 (2000)
- Reynolds, J. H. & Heeger, D. J. The normalization model of attention. *Neuron* **61**:168-185 (2009)
- Reynolds, J. H., Pasternak, T. & Desimone, R. Attention increases sensibility of V4 neurons. *Neuron* **26**:703-714 (2000)
- Reynolds, J. H. & Chelazzi, L. Attentional modulation of visual processing. *Annu Rev Neurosci* **27**: 611-647 (2004)
- Reza, J. Guide to magnetic stimulation. *The Magstim Company*. Limited, U. K. (1996)
- Richmond, B. J. & Sato, T. Enhancement of inferior temporal neurons during visual discrimination. *J Neurophysiol* **58**(6):1292-306 (1987)
- Rieke, F. Bodnar, D. A. & Bialek, W. Naturalistic stimuli increase the rate and efficiency of information transmission by primary auditory afferents. *Proc Biol Sci* **22**: 262(1365): 259-265(1995)

Rivadulla, C., Martínez, L. M., Varela, C. & Cudeiro, J. Completing the corticofugal loop: a visual role for the corticogeniculate type 1 metabotropic glutamate receptor. *J Neurosci* **22**: 2956-2962 (2002)

Rivadulla, C., Martinez, L., Grieve K. L. & Cudeiro, J. Receptive field structure of burst and tonic firing in feline lateral geniculate nucleus. *J Physiol (Lond.)* **553**: 601-610 (2003)

Robinson, H. P., Kawahara, M., Jimbo, Y., Torimitsu, K., Kuroda, Y. & Kawana, A. Periodic synchronized bursting and intracellular calcium transients elicited by low magnesium in cultured cortical neurons. *J Neurophysiol* **70**: 1606-1616(1993)

Rodieck, R. W. Visual Pathways. *A Rev Neurosci* **2**: 193-225 (1979)

Rodieck, R. W., Binmoeller, K. F. & Dineen, J. Parasol and midget ganglion cells of the human retina. ARVO abstract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **233**: 115-132 (1985)

Roelfsema, P. R., Lamme, V. A., Spekreijse, H. Object-based attention in the primary visual cortex of the macaque monkey. *Nature* **395**:376-381 (1998)

Rolls, E. T. & Tovee, M. J. Sparseness of the neuronal representation of stimuli in the primate temporal visual cortex. *J Neurophysiol* **73**(2):713-26 (1995)

Rogala, J. Waleszcyk, W. J., Leski, S., Wróbel, A. & Wójcik, D. K. Reciprocal inhibition and slow calcium decay in perigeniculate interneurons explain changes of spontaneous firing of thalamic cells caused by cortical inactivation. *J Comput Neurosci* (2012) [Epub ahead of print]

Rothwell, J. C. Techniques and mechanisms of action of transcranial stimulation of the human motor cortex. *J Neurosci Met* **74**: 113-122 (1997)

Ruzzoli, M., Abrahamyan, A., Clifford, C. W. G., Marzi, C. A., Miniussi, C. & Harris, J. A. The effect of TMS on visual motion sensitivity: an increase in neural noise or a decrease in signal strength? *J Neurophysiol.* **106**(1):138-143 (2010)

Sánchez-Vives, M. V. & McCormick, D. A. Functional properties of perigeniculate inhibition of dorsal lateral geniculate nucleus thalamocortical neurons in vitro. *J Neurosci* **17**: 8880-8893 (1997)

Scharfman, H. E., Lu, S. M., Guido, W., Adams, P. R. & Sherman, S. M. N-methyl-D-aspartate receptors contribute to excitatory postsynaptic potentials of cat lateral geniculate neurons recorded in thalamic slices. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**(12):4548-52 (1990)

Schiller, P. H. & Malpeli, J. G. Functional specificity of lateral geniculate nucleus laminae of the rhesus monkey. *J Neurophysiol* **41**: 788-797 (1978)

Schiller, P. H. & Logothetis, N. K. The color-opponent and broad-band channels of the primate visual system. *Trends Neurosci* **13**: 392-398 (1990)

- Schummers, J., Yu, H. & Sur, M. Tuned responses of astrocytes and their influence on hemodynamic signals in the visual cortex. *Science* **20**;320(5883):1638-1643 (2008)
- Shapley, R. Developments in vision. *Science* **256**: 1837-1838 (1992)
- Shapley, R. & Lennie, P. Spatial frequency analysis in the visual system. *Annu Rev Neurosci* **8**: 547-583 (1985)
- Sherman, S. M. Functional organization of the W-, X- and Y-cell pathways in the cat: a review and hypothesis. *Progress in Psychobiology and Physiological Psychology*, vol **11**: 233-314, eds. Sprague, J. M. & Epstein, A. N. Academic Press, Orlando, Fla (1985)
- Sherman, S. M. Dual response modes in lateral geniculate neurons: mechanism and functions. *Vis Neurosci* **13**:205-213 (1996)
- Sherman, S. M. Tonic and burst firing: dual modes of thalamocortical relay. *Trends Neurosci* **24**: 122-126 (2001)
- Sherman, S.M. The thalamus is more than just a relay. *Curr Op Neurobiol* **17**: 417-422 (2007)
- Sherman, S. M. & Spear, P. D. Organization of visual pathways in normal and visually deprived cats. *Physiol Rev* **62**: 738-855 (1982)
- Sherman, S.M. & Guillery, R. W. The functional organization of thalamocortical relays. *J Neurophysiol* **76**:384-392 (1996)
- Sherman, S. M. & Guillery, R. W. On the action that one nerve cell can have on another: Distinguishing “drivers” from “modulators”. *Proc Nat Acad Sci USA* **95**:7121-7126 (1998)
- Sherman, S.M. & Guillery, R. W. Exploring the Thalamus. *Academic Press*, San Diego, Calif. (2001)
- Sherman, S. M. & Guillery, R. W. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *The Royal Society 1695-1708* (2002)
- Sherman, S.M. & Guillery, R. W. Thalamus. In *Synaptic Organization of the Brain*, ed. Shepehrsd, G. M., pp. 311-359. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra (2004).
- Sherman, S. M. & Guillery, R. W. Exploring the thalamus and its role in cortical function. *The MIT press (Lond.)* (2006)
- Siegel, M., Marder, E. & Abbott, L. F. Activity-dependent current distributions in model neurons. *Proc Nat Acad Sci USA* **91**:11308-11312 (1994)
- Sillito, A. M. & Jones, H. E. Corticothalamic interactions in the transfer of visual information. *Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci* **357**: 1739-1752 (2002)

Sillito, A. M., Murphy, P.C. & Salt, T. E. The contribution of the non-N-methyl-D-aspartate group of excitatory amino acid receptors to retinogeniculate transmission in the cat. *Neuroscience* **34**: 273-280 (1990)

Sillito, A. M., Cudeiro, J. & Jones, H. E. Always returning: feedback and sensory processing in visual cortex and thalamus. *Trends Neurosci.* **29**: 307-316 (2006)

Silvanto J, Pascual-Leone A. State-dependency of transcranial magnetic stimulation. *Brain Topogr* **21**(1):1-10. doi: 10.1007/s10548-008-0067-0. Epub (2008) Review.

Silveira, L. C. & Perry, V. H. The topography of magnocellular projecting ganglion cells (M-ganglion cells) in the primate retina. *Neuroscience* **40**(1):217-37 (1991)

Silveira, L. C. L., Saito, C. A. & Lee, B. B. Morphology and physiology of primate M and P cells. *Prog Brain Res* **144**: 21-46 (2004)

Smith, G. D., Cox, C. L., Sherman, S. M. & Rinzel, J. Fourier analysis of sinusoidally-driven thalamocortical relay neurons and a minimal integrate-and-fire-or-burst model. *J Neurophysiol* **83**:588-610 (2000)

Snider, R. Stereotaxic atlas of the monkey brain (*Macaca mulatta*). ed. UMI Books on Demand; UMI bell & howell company (1998)

Sociedad Española para las ciencias del animal de laboratorio: Guía y legislatura. <http://www.secal.es>

Solomon, G. S., White, A. J. R. & Martin, P. R. Temporal contrast sensitivity in the lateral geniculate nucleus of a New World monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *J Physiol* **517**:907-917 (1999)

Somers, D. C., Dale, A. M. Seifferte, A. E. & Tootell, R. B. Functional MRI reveals spatially specific attentional modulation in human primary visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**:1663-1668 (1999)

Somogyi, P., Freund, T. F. & Cowey, A. The axo-axonic interneuron in the cerebral cortex of the rat, cat and monkey. *Neuroscience* **7**:2577-2609 (1982)

Spear, P. D., Moore, R. J., Kim C. B., Xue, J. T. & Tumosa, N. Effects of aging on the primate visual system: spatial and temporal processing by lateral geniculate neurons in young adult and old rhesus monkeys. *J Neurophysiol* **517**: 907-917 (1994)

Steriade, M. & Llinás, R. The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiological Reviews* **68**:649-742 (1988)

Steriade, M. & McCarley, R. W. Brainstem control of wakefulness and the associated neuronal interplay. Plenum, New York. (1990)

- Steriade, M., Paré, D., Bouhassira, D., Deschênes, M. & Oakson, G. Phasic activation of lateral geniculate and perigeniculate thalamic neurons during sleep with ponto-geniculo-occipital waves. *J Neurosci* **9**(7):2215-29 (1989)
- Steriade, M., Dossi, R.C. & Nuñez, A. Network modulation of a slow intrinsic oscillation of cat thalamocortical neurons implicated in sleep delta waves: cortically induced synchronization and brainstem cholinergic suppression. *J Neurosci* **11**(10):3200-17(1991)
- Steriade, M., Contreras, D., Curró Dossi, R. & Nuñez, A. The slow (<1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *J Neurosci* **13**:3284-3299 (1993a)
- Steriade, M. & McCormick, D. A. & Sejnowski, T. J. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* **262** (5134):679-85 (1993b)
- Suga, N. & Ma, X. Multiparametric corticofugal modulation and plasticity in the auditory system. *Nat Rev Neurosci* **4**(10):783-94 (2003)
- Swadlow, H. A. & Gusev, A. G. The impact of “bursting” thalamic impulses at a neocortical synapse. *Nature Neurosci* **4**:402-408. (2001)
- Swadlow, H. A. & Gusev, A. G. Receptive-field construction in cortical inhibitory interneurons. *Nat Neurosci* **5**:403-404 (2002)
- Temereanca, S. & Simons, D. J. Functional topography of corticothalamic feedback enhances thalamic spatial response tuning in the somatosensory whisker/barrel system. *Neuron* **41**(4): 639-51 (2004)
- Thomas, N.W. & Pare, M. Temporal processing of saccade targets in parietal cortex area LIP during visual search. *J Neurophysiol* **97**: 942-947(2007)
- Thomson, A. M. Facilitation, augmentation and potentiation at central synapses. *Trend Neurosci* **23**:305-312 (2000a)
- Thomson, A. M. Molecular frequency filters at central synapses. *Prog In Neurobiol* **62**:159-196 (2000b)
- Thomson, A. M. Neocortical layer 6: a review. *Front Neuroanat* **31**: 4-13 (2010)
- Thomson, A. M. & Deuchars, J. Temporal and spatial properties of local circuits in neocortex. *Trends Neurosci* **17**: 119–126 (1994)
- Thomson, A. M. & West, D. C. Presynaptic frequency filtering in the gamma frequency band; dual intracellular recordings in slices of adult rat and cat neocortex. *Cereb Cortex* **13**(2): 136-43 (2003)
- Thorpe, W. H. Learning and instinct in animal (2nd ed.) *Methuen London* (1963)

- Thorpe, S. J. & Fabre-Thorpe, M. Neuroscience. Seeking categories in the brain. *Science* **291**:260-263 (2001)
- Treisman, A. M. Feature binding, attention and object perception. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Scic* **355**:1295-1306 (1998)
- Treisman, A. M. & Gelade, G. A feature integration theory of attention. *Cognit. Psychol* **12**:97-136 (1980)
- Treisman, A. M. & Souther, J. Search asymmetry: a diagnostic for preattentive processing of separable features. *J Exp Psychol Gen* **114**:285-310 (1985)
- Treue, S. Neural correlates of attention in primate visual cortex. *Trends Neurosci* **24**:295-300 (2001)
- Treue, S. & Martínez-Trujillo, J. C. Feature-based attention influences motion processing gain in macaque visual cortex. *Nature* **399**: 575-579 (1999)
- Tömböl, T. Two types of short axon (Golgi 2nd) interneurons in the specific thalamic nuclei. *Acta Morphologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **17**: 285-297 (1969)
- Touge, T., Gerschlagel, W., Brown, P. & Rothwell, J. C. Are the effects of low-frequency rTMS on motor cortex excitability due to changes in the efficacy of cortical synapses. *Clin Neurophysiol* **112**:2138–2145 (2001)
- Tolhurst, D.J., Sharpe, C.R. & Hart, G. The analysis of the drift rate of moving sinusoidal gratings. *Vision Res* **13**(12): 2545-55 (1973)
- Turner, J.P. & Salt, T.E. Characterization of sensory and corticothalamic excitatory inputs to rat thalamocortical neurones in vitro. *J Physiol* **510** (Pt 3):829-43 (1998)
- Updyke, B. V. The patterns of projection of cortical areas 17, 18 and 19 onto the laminae of the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat. *J Comp Neurol* **163**: 377-395 (1975)
- Usrey, W. M. & Fitzpatrick, D. Specificity in the axonal connections of layer V1 neurons in tree shrew striate cortex: evidence for separate granular and supragranular systems. *J Neurosci* **16**: 1203-1218 (1996)
- Usrey, W. M., Reppas, J. B. & Reid, R. C. Paired-spike interactions and synaptic efficacy of retinal inputs to the thalamus. *Nature* **395**:384-387 (1998)
- Usrey, W. M., Reppas, J. B. & Reid, R. C. Specificity and strength of retinogeniculate connections. *J Neurophysiol* **82**:3527-3540 (1999)
- Usrey, W. M., Alonso, J. M. & Reid, R. C. Synaptic interactions between thalamic inputs to simple cells in cat visual cortex. *J Neurosci* **20**: 5461-5467 (2000)

- Valverde, F. Estructura de la corteza cerebral. Organización intrínseca y análisis comparativo del neocórtex. *Rev Neurol* **34** (8): 758-780 (2002)
- Van Hooser, S. D., Heimer, J. A. & Nelson, S. B. Functional cell classes and functional architecture in the early visual system of a highly visual rodent, in *Cortical Function: A view from the Thalamus*, eds. Casagrande, V. A., Guillery, R. W. & Sherman, S. M. *Prog. Brain Res.* **149**:127-145 (2005)
- Van Horn, S. C. & Sherman, S. M. Differences in projection patterns between large and small corticothalamic terminals. *J Comp Neurol* **475**:406-415 (2004)
- Van Horn, S. C., Erisir, A. & Sherman, S. M. The relative distribution of synapses in the A-laminae of the lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* **416**:509-520 (2000)
- VanRullen, R. & Thorpe, S. J. The time course of visual processing: From early perception to decision-making. *J Cogn Neurosci* **13**:454-461 (2001)
- Vaney, D. I., Peichl, L., Wässle, H., & Illing, R.-B. Almost all ganglion cells in the rabbit retina project to the superior colliculus. *Brain Res* **212**:447-453 (1981)
- Varela, J. A., Song, S., Turrigiano, G. G. & Nelson, S.B. Differential depression at excitatory and inhibitory synapses in visual cortex. *J Neurosci* **19**(11):4293-304 (1999)
- Vidyaagar, T. R. Gating of neuronal responses in macaque primary visual cortex by an attentional spotlight. *Neuroreport* **9**:1947-1952 (1998)
- Vinje, W. E. & Gallant, J. L. Sparse coding and decorrelation in primary visual cortex during natural vision. *Science* **287**(5456):1273-6 (2000)
- Von Krosigk, M., Bal, T. & McCormick, D. A. Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science* **261**: 361-364 (1993)
- Waleszczyk, W. K., Bekisz, M. & Wróbel, A. Cortical modulation of neuronal activity in the cat's lateral geniculate and perigeniculate nuclei. *Exp Neurol* **196**:54-72 (2005)
- Wang, W., Jones, H. E., Andolina, I. M., Salt, T. E. & Sillito, A. M. Functional alignment of feedback effects from visual cortex to thalamus. *Nat Neurosci* **9**: 1330-1336 (2006)
- Warland, D. K., Reinagel, P. & Meister, M. Decoding visual information from a population of retinal ganglion cells. *J Neurophysiol* **78**(5):2336-50 (1998)
- Watanabe, T., Sasaki, Y., Miyauchi, S., Putz, B., Fujimaki, N., Nielsen, M., Takino, R. & Miyakawa, S. Attention-regulated activity in human primary visual cortex. *J Neurophysiol* **79**:2218-2221 (1998)
- Webb, B. S., Tinsley, C. J., Barraclough, N. E., Easton, A., Parker, A. & Derrington, A. M. Feedback from V1 and inhibition from beyond the classical receptive field modulates the responses of neurons in the primate lateral geniculate nucleus. *Vis Neurosci* **19**: 583-592 (2002)

- Weyand, T. G., Boudreaux, M. & Guido, W. Burst and tonic response modes in thalamic neurons during sleep and wakefulness. *J Neurophysiol* **85**: 1107-1118 (2001)
- William, S. R. & Stuart, G. J. Mechanism and consequences of action potential burst firing in rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol* **509**:797-815 (1999)
- Wilson, J. R. & Hendrickson, A. E. Serotonergic axons in the monkey's lateral geniculate nucleus. *Vis Neurosci* **1**(1):125-33 (1988)
- Wiser, A. K. & Callaway, E. M. Contributions of individual layer 6 pyramidal neurons to local circuitry in macaque primary visual cortex. *J Neurosci* **16**:2724-2739 (1996)
- Womelsdorf, T., Schoffelen, J. M., Oostenveld, R., Singer, W., Desimone, R., Engel, A.K. & Fries, P. Modulation of neuronal interactions through neuronal synchronization. *Science* **316**(5831):1609-12 (2007)
- Wörgötter, F., Suder, K., Zhao, Y., Kerscher, N., Eysel, U. T. & Funke, K. State-dependent receptive-field restructuring in the visual cortex. *Nature* **396**: 165-168 (1998)
- Wu, Y. & Yan, J. Modulation of the receptive fields of midbrain neurons elicited by thalamic electrical stimulation through corticofugal feedback. *J Neurosci* **27**:10651–10658 (2007)
- Xu, X., Ichida, J. M., Allison, J. D., Boyd, J. D., Bonds, A. B. & Casagrande, V. A. A comparison of koniocellular, magnocellular and parvocellular receptive field properties in the lateral geniculate nucleus of the owl monkey (*Aotus trivirgatus*) *J Physiol* **531.1**:203-218 (2001)
- Yeshurun, Y. & Carrasco, M. Spatial attention improves performance in spatial resolution tasks. *Vision Res* **39**: 293-306 (1999)
- Zhan, X. J., Cox, C. L., Rinzel, J. & Sherman, S. M. Current clamp and modeling studies of low-threshold calcium spikes in cells of the cat's lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* **81**: 2360-2373 (1999)
- Zhang, Y. & Suga, N. Modulation of responses and frequency tuning of thalamic and collicular neurons by cortical activation in mustached bats. *J Neurophysiol* **84**(1):325-33 (2000)
- Zhang, Y. & Yan, Y. Corticothalamic feedback for sound-specific plasticity of auditory thalamic neurons elicited by tones paired with basal forebrain stimulation. *Cereb Cortex* (2008) [Epub ahead of print, PMID 18203697]
- Zhou, Q., Godwin, D. W., O'Malley, D. M. & Adams, P. R. Visualization of calcium influx through channels that shape the burst and tonic firing modes of thalamic relay cells. *J Neurophysiol* **77**:2816-2828(1997)

FE DE ERRORES

Tesis Doctoral:

“Papel de las ráfagas de potenciales de acción en la detección de estímulos visuales en primates: Regulación por la vía córtico-talámica”

Pág. 31: (Baker, 1985) debería ser Barker.

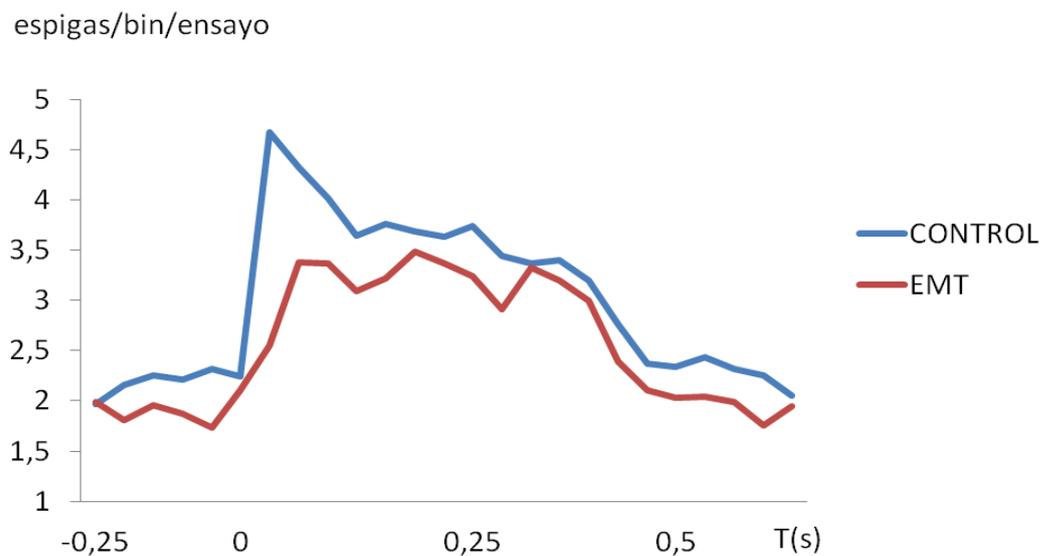
Pág. 32: TMS, debería ser EMT.

Pág. 41: esterotáxico debería ser estereotáxico.

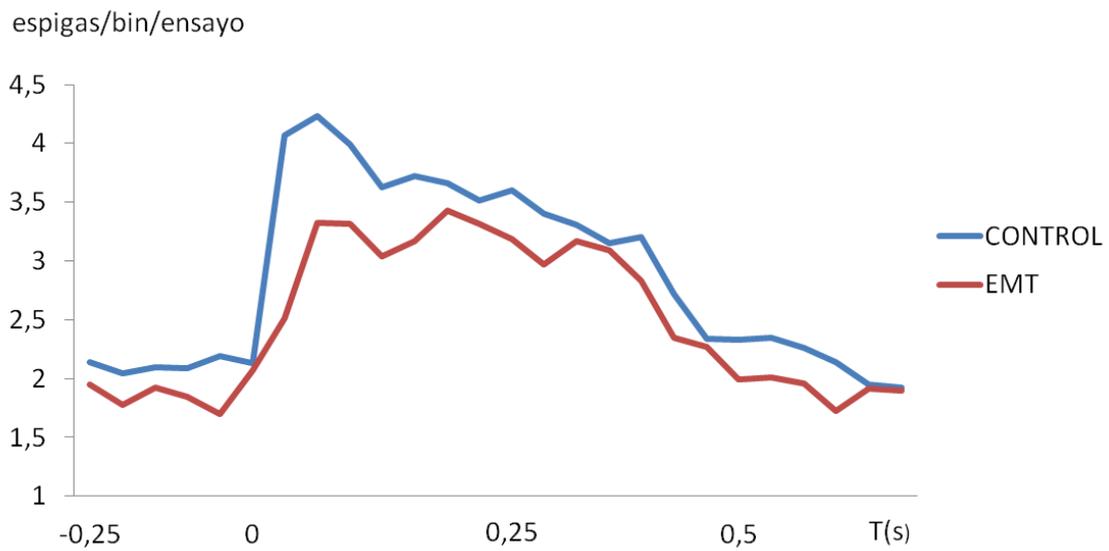
Pág. 79: Dónde pone p valor: 0,606971, debería ser p valor: 0,136317.

Pág. 90: Dónde indica el tamaño del bin, en vez de 10 ms, debería aparecer 50 ms.

Pág. 91: La gráfica 5.31A presenta un error en la normalización de los datos del registro EMT, siendo la gráfica correcta la siguiente:



Pág. 94: La gráfica 5.34A presenta un error en la normalización de los datos del registro EMT, siendo la gráfica correcta la siguiente:



Pág. 112: Dónde pone 50, 76% debería poner aproximadamente 40%, y dónde pone 36,22%, debería poner 16%, debido al error anterior en la normalización.