

UCH-FC
Biotecnología
S. 259
C.1

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

UN POSIBLE MECANISMO DE ATENCION VISUAL ESPACIAL EN EL
MESENCÉFALO DE *Columba livia*

DESCARTE

Memoria de Título
Entregada a la
Universidad de Chile
En cumplimiento parcial de los requisitos
Para optar al Título de
Ingeniero en Biotecnología Molecular



Por

Carlos Salas López

Marzo, 2007
Santiago, Chile

Directores de Memoria de Título: Gonzalo Marín Gamé y Jorge Mpodozis Marín



“UN POSIBLE MECANISMO DE ATENCIÓN VISUAL ESPACIAL EN EL MESENCÉFALO DE *Columba livia*”

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Ingeniero en Biotecnología Molecular.

CARLOS SALAS LÓPEZ.

GONZALO MARÍN GAMÉ
Director Seminario de Título

Gonzalo Marín

JORGE MPODOZIS MARÍN
Director Seminario de Título

Jorge Mpodozis Marín

Comisión de Evaluación Seminario de Título

Dr. Julio Alcayaga Urbina
Presidente Comisión

Julio Alcayaga Urbina

Dra. María Magdalena Sanhueza Tohá
Correctora

M. Sanhueza Tohá

Santiago de Chile, junio de 2007



Dedicado a la memoria del viejo rayo



Quisiera agradecer a Gonzalo Marín, Jorge Mpodozis, Solano Henríquez,
Juan Carlos Letelier y Elisa Sentis por todo lo entregado y por hacer posible
este trabajo,

Y a mi familia, colegas y amigos por su apoyo incondicional.





INDICE DE CONTENIDOS

Introducción	1
Materiales y Métodos	12
Resultados	17
Discusión	27
Conclusiones	31
Bibliografía	32

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	4
Figura 2	6
Figura 3	8
Figura 4	18
Figura 5	21
Figura 6	25



LISTA DE ABREVIATURAS

SC	colículo superior
TO	tectum óptico
NI	núcleo isthmi
Ipc	núcleo isthmi pars parvocelularis
Imc	núcleo isthmi pars magnocelularis
Slu	núcleo isthmi pars semilunaris
GABA	ácido gama amino butírico
MS	mapa de saliencia
NB	neurona tectal con axón tipo bastón
DOR	descargas oscilatorias tectales rápidas
HF	actividad de alta frecuencia producida por Imc
GTT	circuito ganador-toma-todo



RESUMEN

Una escena visual contiene habitualmente muchos estímulos distintos. Sin embargo sólo algunos de estos influyen la conducta. ¿Qué mecanismo da cuenta de esta selección de estímulos? En los modelos de atención visual actuales se considera que existe un aumento de la sensibilidad visual en ciertas zonas del espacio que emerge producto de interacciones competitivas entre todos los estímulos del campo visual.

Correlatos fisiológicos de este foco de atención pueden ser observados en varias áreas cerebrales; en particular, algunos estudios sugieren que el colículo superior (SC) y su vía ascendente tecto-rotundo-palial son estructuras claves en la selección de estímulos y cambio en el foco atencional. En aves la estructura homóloga del SC es el tectum óptico (TO), que está asociado a dos estructuras satélites, nucleus isthmi pars parvocelularis (Ipc) y nucleus isthmi pars magnocelularis (Imc), ambas estructuras laminares recíprocamente conectadas con el TO. Cada neurona de Ipc envía un axón al sitio homotópico en el TO donde su aferencia visual es originada. Imc en cambio posee proyecciones inhibitorias tanto sobre Ipc como sobre el TO. Las repuestas fisiológicas más conspicuas encontradas en el TO frente a estimulación visual se denominan descargas oscilatorias tectales rápidas (DOR) y consisten en descargas de potenciales de acción con una frecuencia de entre 500-600 Hz. La actividad DOR representa señales reentrantes en TO producidas por Ipc y probablemente representan descargas de acetilcolina en TO. Este seminario de título muestra que la respuesta DOR provocada en un sitio de Ipc por la estimulación visual dentro de su campo receptivo es inhibida por la aparición de un segundo estímulo visual en otro sitio del campo visual de la paloma. Este trabajo además sugiere que esta inhibición está mediada por la actividad de Imc sobre Ipc, ya que la inactivación local de Imc previene la inhibición de la actividad DOR durante esta competencia de estímulos. La actividad de Ipc podría potenciar tanto señales sensoriales como premotoras a través de una columna en el mapa tectal, representando lo que podría ser el correlato neuronal de un foco de atención. La operación de este circuito neuronal, formado por Ipc, Imc y TO podría constituir un mecanismo de selección de estímulos visuales y formar parte de los procesos básicos que subyacen a la atención espacial.

INTRODUCCIÓN

En la exploración visual, los movimientos oculares sacádicos dirigen la fovea de la retina hacia los distintos hitos del campo visual. Dado que la fovea es el lugar donde se encuentra la mayor densidad de conos y bastones de la retina, los estímulos vistos a través de ésta son percibidos con una mayor resolución en relación a otras áreas más periféricas de la retina (Treue, 2001; Awh y col., 2006). Sin embargo la orientación de la fovea hacia un objeto no es la única manera de facilitar su percepción. Existen mecanismos neuronales centrales que permiten potenciar el procesamiento de la aferencia visual proveniente tanto de la fovea como de otras partes de la retina. A este proceso de aumento de la percepción de los estímulos respecto al entorno se le denomina atención visual espacial. Por ejemplo, si fijamos la fovea en un punto del espacio, podemos prestar atención a distintas zonas del campo visual aún sin mover los ojos, fenómeno conocido como atención encubierta (Moore y col., 2003). Incluso podemos desplazar este foco de atención visual por el espacio, al igual que con los movimientos oculares. La exploración del espacio visual podría ocurrir entonces de manera serial, prestando atención a un punto cada vez en el tiempo, de una manera análoga a lo que sucede con los movimientos oculares; o bien paralelamente donde eventos como la aparición de un estímulo en el espacio dirigirían la atención a esa locación (Deco y col., 2002). De esta manera se establece una diferencia entre los espacios atendidos, donde

existe una potenciación de la actividad visual, y las zonas no atendidas donde ocurre una supresión (Shipp, 2004).

Aunque correlatos fisiológicos de este foco atencional son encontrados en distintas áreas visuales del cerebro de vertebrados (Bender y Youakim, 2001; Sato y col., 2003; Armstrong y col., 2006), varios estudios en mamíferos, principalmente primates, sugieren que el colículo superior (SC) y la vía colículo-pulvinar-palial son estructuras claves en la selección de estímulos visuales y en el cambio de posición espacial del foco atencional (Posner y Petersen, 1990; Sapir y col., 1999; Armstrong y col., 2006). En gatos y primates se ha mostrado que la microestimulación del SC gatilla movimientos de los ojos y/o la cabeza (Freedman y col., 1996; Bergeron y col., 2003). De manera análoga, Muller y col. (Muller y col., 2005) mostraron que la estimulación de un sitio en SC dirige la atención hacia el campo receptivo del locus estimulado. Este y otros estudios sugieren que los movimientos atencionales estarían relacionados con las áreas premotoras de SC y compartirían en alguna medida los circuitos neuronales que controlan los movimientos oculares (Kustov y Robinson, 1996; Ignashchenkova y col., 2004). Sin embargo, cuáles son estos mecanismos compartidos y cómo el colículo superior controla los movimientos del foco atencional está lejos de ser comprendido.

En aves la estructura homóloga al colículo superior es el tectum óptico (TO). Éste es la principal estructura visual de vertebrados no mamíferos, y en aves recibe aproximadamente el 90% de las fibras provenientes de la retina contralateral (Karten y col., 1997). En cuanto a la anatomía de TO, se distingue como una estructura laminar, compuesta de 15 capas plexiformes y celulares. Los axones provenientes de la retina llegan a distintas capas superficiales de TO, llamadas capas retinorecipientes (capas 2,

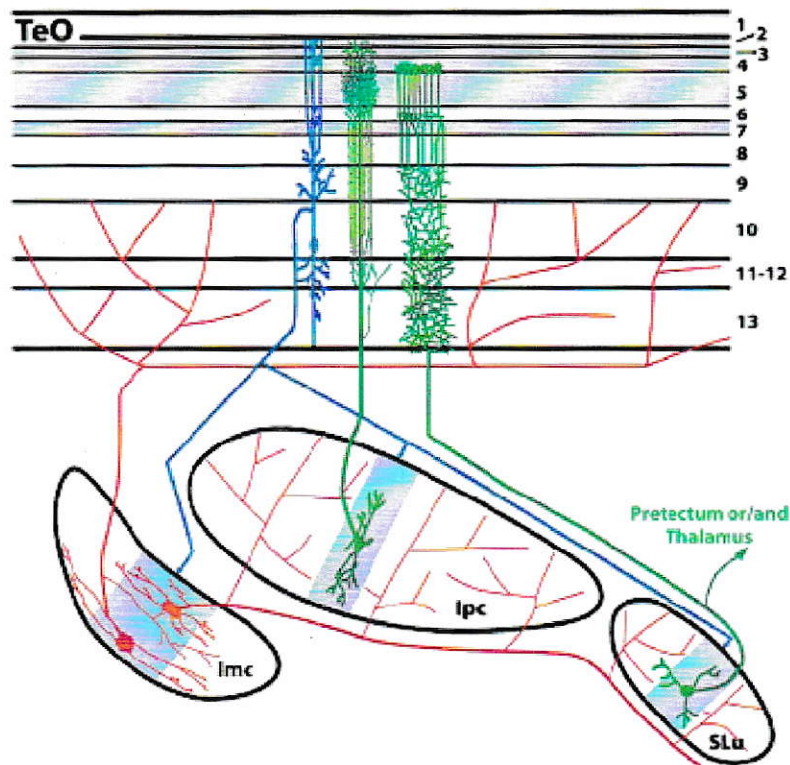
3, 4, 5 y 7) (Karten y col., 1997; Tombol y col., 2003) y conforman su principal aferencia. En el TO las aferencias retinianas conservan un alto grado de retinotopía por lo que se dice que en TO se encuentra una representación punto a punto del espacio visual contralateral; es decir, cada locus en el tectum tiene su campo receptivo al lado del campo receptivo de su locus vecino (Letelier y col., 2004).

Una de las vías eferentes en el TO es la proyección descendente tecto-bulbar, de carácter presumiblemente premotor, que estaría involucrada en los movimientos oculares y de orientación de la cabeza (du Lac y Knudsen, 1990; Masino y Knudsen, 1993). Además el TO da origen a la vía sensorial ascendente tecto-rotundo-palial a partir de las células tectales ganglionares (TGC), cuyas proyecciones se extienden en el tálamo sobre las distintas subdivisiones del núcleo rotundus thalami (Marin y col., 2003) y desde donde se proyectan axones al entopallio ubicado en el telencéfalo palial (Benowitz y Karten, 1976; Krutzfeldt y Wild, 2005). Esta vía es homóloga a la colículo-pulvinar-palial en mamíferos (Butler, 1994).

En este trabajo se propone que en aves, la aparición de un foco atencional visual ocurriría mediante una modulación presumiblemente colinérgica que opera dentro del mapa tectal, la cual circunscribiría la atención a zonas restringidas del espacio visual. Esta modulación sería ejecutada por un conjunto de núcleos satélites del tectum, ubicados en el tegmento dorsolateral del mesencéfalo denominados en conjunto núcleo isthmi (NI). NI está presente en todos los vertebrados y en aves lo conforman: núcleo isthmi pars parvocelularis (Ipc), núcleo isthmi pars magnocelularis (Imc) y núcleo isthmi pars semilunaris (Slu) (Figura 1). La estructura de NI se organiza en láminas y todos sus componentes se conectan recíprocamente con TO (Gruberg y col., 2006).

Para alcanzar la comprensión del problema es necesario revisar los aspectos principales de la anatomía y conectividad de este conjunto de núcleos cerebrales. Entre los detalles anatómicos relevantes de Ipc encontramos que cada neurona en este núcleo proyecta su axón exclusivamente a TO, al mismo lugar donde su aferencia tectal es generada, por lo que se considera que la conexión TO-Ipc-TO es recíprocamente homotópica.

Figura 1. Esquema de los núcleos istmo (NI)



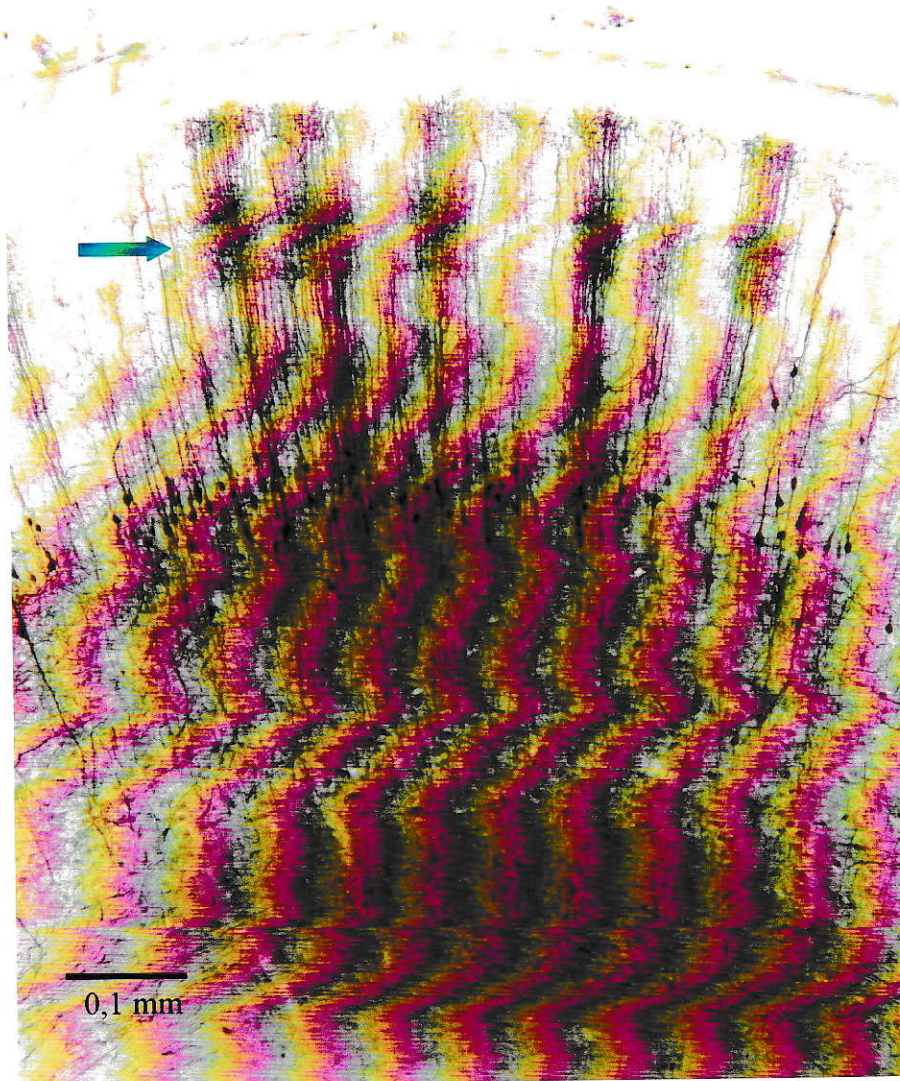
Los cortes están esquematizados desde una vista de un corte transversal a través del mesencéfalo de la paloma. TeO, Tectum Óptico; Imc, núcleo istmo magnocelularis; Ipc, núcleo istmo parvocelularis; Slu, núcleo semilunaris. El código de color de las neuronas indica el neurotransmisor que se libera en el terminal del axón: azul, glutamato; rojo, GABA; verde, acetilcolina. Obtenido de (Wang y col., 2006).

Las células de Ipc son neuronas bipolares, con el cuerpo celular de forma ovalada y sus axones dan origen a un terminal con un morfo tipo cepillo (ver esquema en Figura 1, ver Figura 2). Estos terminales axónicos ramifican de manera columnar a través de todas las capas tectales, con una especial densidad en la capa 5 (Gunturkun y Remy, 1990; Marin y col., 2005; Wang y col., 2006).

El input tectal sobre este núcleo y probablemente sobre Imc y Slu también, proviene de neuronas bipolares dispuestas de manera radial en TO. El cuerpo neuronal de estas células se encuentra en la capa 10 de TO (Wang y col., 2006) y sus árboles dendríticos se extienden en una columna entre las capas 2 y 13 de TO. Estas neuronas se caracterizan por tener un axón tipo bastón, el cual sale del tronco dendrítico principal e invierte su recorrido hasta alcanzar el NI. En adelante nos referiremos a estas neuronas como neuronas tipo bastón (NB).

Respecto del núcleo Imc, se ha mostrado que todas sus células son inmunoreactivas a GABA (Tombol y Nemeth, 1998). En cuanto a sus conexiones con otros núcleos, Wang y col. (Wang y col., 2004) describe en este núcleo dos tipos de eferencias: una eferencia tectal denominada por estos autores como Imc-Te, que se extiende de manera difusa en las capas más internas de TO y otra denominada Imc-Ipc, la cual es aferente de los núcleos Ipc y Slu. Ésta proyección también es difusa y abarca la mayor parte de la superficie de estos núcleos. Las proyecciones de Imc se reconocen como heterotópicas pues las proyecciones de Imc al ser difusas no mantienen la retinotopía tectal.

Figura 2. Fotografía de una tinción de los axones en cepillo de Ipc de la paloma.

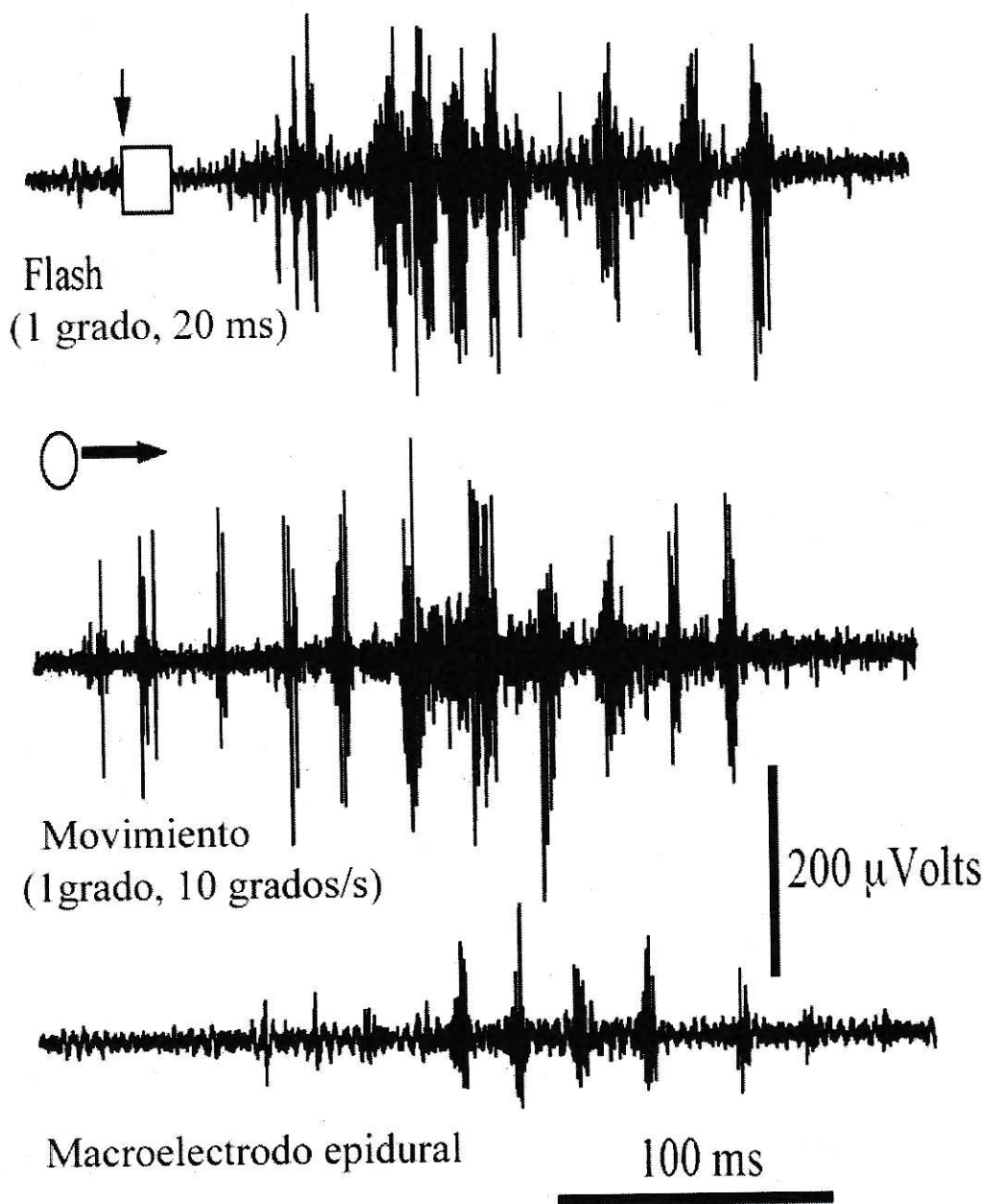


Los axones fueron teñidos según el procedimiento descrito en (Marin y col., 2003). En la fotografía es posible observar los axones con terminación en cepillo en TO. Nótese la mayor densidad de ramificaciones de estos en la capa 5 de TO (flecha).

En cuanto a la fisiología del tectum, varios estudios han reportado que la respuesta más común registrada extracelularmente en el tectum, corresponde a descargas de potenciales de acción en forma de DOR, cuyos componentes individuales son muy difíciles de aislar (Knudsen, 1982; Neuenschwander y Varela, 1993; Neuenschwander y col., 1996). Resultados de nuestro laboratorio demostraron que los DOR tectales representarían descargas de los terminales de las neuronas de Ipc y por lo tanto serían señales re-entrantes en el tectum (Marin y col., 2005) (ver Figura 3). Los DOR son respuestas a estímulos visuales transitorios o en movimiento y consisten en secuencias de potenciales de acción con una frecuencia intra-DOR de 500-600 Hz y con una frecuencia inter-DOR de 20-100 Hz. Dado que las neuronas de Ipc serían colinérgicas, estos resultados sugieren que los DOR tectales corresponderían a eventos de liberación de acetilcolina que podrían modular el flujo de señales visuales a lo largo de una columna tectal.

De la disposición anatómica descrita antes es posible deducir que la principal acción de los terminales en cepillo ocurre en la capa 5 en TO, donde la liberación de acetilcolina podría tener un efecto excitador sobre la sinapsis formada, directa o indirectamente, por los terminales retinianos y los terminales dendríticos de las TGC tipo I. En varios grupos animales se ha sugerido que la modulación colinérgica mediada

Figura 3. Registro de DOR tectales en respuesta a distintos estímulos



Flash: El registro muestra una descarga DOR en respuesta a una presentación de un estímulo durante 20 ms a través del campo receptivo del sitio de registro. **Movimiento:** Se muestra la respuesta neuronal en TO cuando se estimula con un objeto en movimiento que atraviesa el campo receptivo del sitio de registro. **Macroelectrodo epidural:** Mismo estímulo anterior, pero registrado sobre la duramadre con un macroelectrodo.

por el núcleo istmo en el tectum óptico actuaría sobre receptores nicotínicos ubicados en los terminales presinápticos aumentando la liberación de glutamato en la sinapsis retinotectal (en anfibios, (Edwards y Cline, 1999; Dudkin y Gruberg, 2003); en mamíferos, (Binns y Salt, 2000); y en peces (King y Schmidt, 1991)).

Estos resultados concuerdan con la idea de que la liberación de acetilcolina por parte de axones activos de NI en TO facilita el procesamiento visual en lugares espacialmente restringidos de TO, de una manera que podría ser análoga a la aparición de un foco atencional. Sin embargo este mecanismo por sí sólo no explica la aparición de un único foco de atención ni describe el comportamiento del sistema cuando se enfrenta a dos estímulos simultáneos.

Esto queda más claro cuando se analiza la operación en conjunto del circuito istmo-tectal, especialmente cuando se considera el efecto inhibitor difuso de las proyecciones de Imc sobre Ipc y TO. Es decir, la aparición de un estímulo en el campo visual, llevaría por una parte a la activación del feedback colinérgico en el sitio correspondiente del mapa visual tectal y por otra parte a la inhibición simultánea del resto de Ipc y TO mediante la activación de estas proyecciones GABAérgicas difusas de Imc.

De la misma manera, si aparece repentinamente un nuevo estímulo en el campo visual del animal, se debería desplazar el foco de la retroalimentación colinérgica hacia esa nueva posición, debido a la activación de un nuevo locus en Ipc y la consiguiente inhibición del locus anterior; generándose un único foco de retroalimentación colinérgica que se desplaza a través de la superficie de TO y que podría constituir así un mecanismo análogo al de un foco de atención.

Ahora entonces es posible plantear nuestras hipótesis en relación a la operación del sistema NI-TO, las cuales se listan a continuación:

1. Si la respuesta DOR fuera un correlato de un foco atencional y este es único en todo momento, la descarga DOR producida al estimular visualmente un locus en Ipc debería desaparecer cuando aparece un nuevo estímulo en el campo visual y simultáneamente aparecer en el registro del locus en Ipc donde se representa el nuevo estímulo que aparece en el campo visual.
2. Según los antecedentes anatómicos y fisiológicos descritos anteriormente en este sistema, podemos hipotetizar que la desaparición de la actividad DOR en el locus de prueba frente a la aparición de un estímulo distractor resulta de la modulación GABAérgica que genera el núcleo Imc sobre Ipc. Si es mediante la participación de este núcleo que sucede la desaparición de los DOR en el sitio de prueba, se espera que al bloquear la actividad de Imc no se produzca el desplazamiento de la actividad DOR de un sitio a otro.

Tomando en consideración estas hipótesis, se plantearon los siguientes objetivos:

1. El primer objetivo de este trabajo consiste en caracterizar la respuesta de un locus estimulado visualmente en Ipc cuando aparece un segundo estímulo en una zona distinta del campo visual de la paloma. Conceptualmente se entendería a esta situación como una competencia de estímulos, en tanto la respuesta fisiológica de un locus en Ipc que actúa como locus de prueba, es intervenida por la aparición del segundo estímulo visual que actúa como distractor. La estrategia experimental que permitirá probar esta hipótesis es tener una situación de registro electrofisiológico simultáneo en dos sitios del núcleo Ipc de la paloma. Durante la estimulación visual

de uno de los sitios, el sitio de prueba, aparecerá en el campo visual de la paloma un segundo estímulo, el estímulo distractor, que se ubicará en el lugar del campo receptivo del segundo sitio de registro. Se espera que en el registro de estos sitios la actividad DOR desaparezca en el sitio de prueba y se desplace a la ubicación del sitio de registro del estímulo distractor.

2. El segundo objetivo planteado en este trabajo es evaluar la participación de Imc en esta situación de competencia de estímulos. Con el objetivo de disminuir la modulación GABA-érgica de Imc sobre Ipc se aplicará 6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona (CNQX), un antagonista competitivo de receptores de glutamato tipo AMPA/Kainato, en un locus de Imc, esperando disminuir la modulación de su aferencia tectal en este locus y así disminuir la influencia de este locus de Imc sobre Ipc y TO. La estrategia experimental que se utilizará será la de ubicar el sitio de prueba de Ipc sobrepuesto con el campo receptivo del sitio en Imc donde se inyectará CNQX. Así esperamos que durante la situación de competencia de estímulos, el desplazamiento de la actividad DOR del sitio de prueba al sitio del distractor no se haga efectiva en ausencia de la modulación GABAérgica producida por Imc.

Con estos dos objetivos, se pretende ayudar a dilucidar la operación del circuito NI-TO y su posible participación en el proceso de selección de estímulos, cuyo efecto modulador colinérgico focalizado, podría constituir un mecanismo de atención espacial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cirugía

Los experimentos se realizaron en palomas (*Columba livia*) adultas de cualquier sexo obtenidas en un criadero local y mantenidas en un vivero. Las palomas se anestesiaron intramuscularmente con una mezcla de ketamina (75mg/Kg) y xilazina (5mg/Kg). Las aves se posicionaron en un eje estereotáxico estándar (Karten y Hodos, 1967) que no interfiere con el campo visual del animal. Durante el experimento, las aves se mantuvieron en un rango de temperatura entre 38 - 42 °C con una manta calefactora y el corazón se monitoreó constantemente mediante un registro bipolar del electrocardiograma. Durante la cirugía el animal se mantuvo anestesiado con la aplicación intramuscular de un 30% de la dosis inicial de anestesia cada dos horas a través de una cánula. El acceso al cerebro se realizó de acuerdo al procedimiento dado en Letelier y col (Letelier y col., 2004), que descubre una franja lateral-ventral del tectum óptico contralateral al ojo estimulado. La ventana en el cráneo se selló con agar 3% durante el registro. Los núcleos se localizaron utilizando el mapa estereotáxico de la paloma (Karten y Hodos, 1967).

Registros electrofisiológicos en NI

En la instancia de competencia de estímulos, se efectuaron registros extracelulares multiunitarios simultáneamente en dos sitios de Ipc utilizando electrodos dobles de tungsteno (separación entre 700-1200 μm), de baja impedancia (1.5Mohm). Los electrodos se orientaron en el eje medio lateral del núcleo en una posición posterior de éste con el uso de un micromanipulador (Kopf, Tujunga, CA, USA). La ubicación de los electrodos y su separación corresponden a campos receptivos separados entre 40-120° en el eje dorso-ventral del campo visual del ojo contralateral. Un alambre de plata se implantó en el cráneo en contacto con el agar, que fue utilizado como referencia de tierra para el registro. En cada paloma se registró de entre 2 a 4 pares de sitios en Ipc. Al final del registro en algunos sitios se realizaron lesiones electrolíticas para la posterior localización del sitio de registro.

Durante la inyección de CNQX, se establecieron 3 sitios de registro, uno en Imc y dos en Ipc. Los sitios de registro en Ipc se ubicaron de manera que el campo receptivo de uno de los sitios se encuentre incluido dentro del campo receptivo de Imc y el otro fuera de éste. En el sitio de la inyección, se utilizaron dos métodos de registro. En algunos casos se registró con alambre de plata sumergido en una micropipeta de vidrio llena con suero salino al 0.9% y en otros con un electrodo de tungsteno sobrepasado alrededor de 30 μm de la punta de la pipeta.

Estimulación visual

Los estímulos visuales fueron generados mediante un sistema de estimulación visual (Leonardo, Lohmann Research Equipment, Germany). Los campos receptivos de las neuronas se ubicaron con la ayuda de un puntero láser manejado con la mano. El estímulo visual presentado fue un círculo blanco, con un diámetro entre $0,5 - 5^\circ$ que se mueve sobre un fondo negro dentro una pantalla de estimulación ubicada a una distancia entre 30-50 cm. del ojo de la paloma. La estimulación visual consiste en el desplazamiento horizontal de este círculo en sentido temporo-nasal a través del campo receptivo del sitio de registro en Ipc. Cada estimulación tiene una duración de 2 s y el objeto se mueve con una velocidad entre 10-50 grados/s. Durante una situación de competencia de estímulos, en el sitio de prueba y en el sitio distractor puede presentarse un objeto en cada sitio por separado o bien simultáneamente con un desfase temporal de 0,5 s uno respecto del otro. De cada situación de estimulación se realizaron 6 repeticiones.

Inyección de CNQX

Para las inyecciones de CNQX se usaron micropipetas triples de vidrio fabricadas en el laboratorio. Uno de los cañones se utilizó para registro electrofisiológico de la actividad neural, que permitió monitorear la acción de CNQX en los sitios de inyección. Un segundo cañon se utilizó para inyectar la droga. La inyección se realizó utilizando un picospritzer con una serie de pulsos de aire, cada uno de 150 ms de

duración programados en un generador de pulsos. Se inyectaron entre 3-10 gotas con un volumen final entre 5-20 μL de solución de CNQX 100 μM . Los sitios de inyección fueron localizados inyectando rodamina cargada en el tercer cañón de la pipeta o bien mediante microlesiones pasando 4 μAmp de corriente positiva por 4 s a través del cañón con el electrodo de tungsteno.

Métodos histológicos

Para la detección de los sitios de inyección y los sitios de registro, las palomas fueron anestesiadas profundamente y perfundidas a través de las arterias carótidas con 400mL de una solución salina al 0,75% a temperatura ambiente y posteriormente con 400 mL de una solución fría de paraformaldehído al 4%, pH 7.2. Los cerebros fueron extraídos del cráneo, mantenidos en una solución de paraformaldehído al 4% y luego trasladados a una solución de sacarosa al 30% por 1-2 días. A continuación los cerebros fueron cortados coronalmente utilizando un micrótopo de congelación, obteniendo secciones de 60 μm de grosor. En las inyecciones de rodamina, los sitios de registro se localizaron en cortes sin tratamiento de deshidratación en un microscopio convencional (Olympus Bx 60) equipado con epifluorescencia y acoplado a una cámara digital (Spot digital color camera, Diagnostic Instruments, Sterling Heights, MI, USA). En los casos de lesiones electrolíticas, los animales fueron mantenidos vivos durante un período entre 1-2 días, después de los cuales fueron perfundidos y sus cerebros fueron procesados con un protocolo de Nissl clásico para observar el sitio de registro.

Adquisición y Análisis de datos

La adquisición de datos y su posterior análisis se realizaron utilizando como software el programa Igor Pro 5.0. Los datos fueron adquiridos a 20 KHz con una tarjeta de conversión análogo-digital de 16 canales, utilizando un PC estándar y dos amplificadores AC de 2 canales cada uno (modelo 1800, AM System Inc., Everett, WA, USA). Después de filtrar los datos digitalmente con un filtro entre 300 Hz-10 KHz, el número de DOR se contabilizó utilizando una rutina de detección escrita en Igor, en base a una función envolvente del registro. La cuenta de DOR fue dividida en cuatro intervalos de 500 ms cada uno. En cada instancia de estimulación visual se promedió el número de DOR de las seis repeticiones. Se midió la diferencia de número de DOR en respuesta a la presencia de un estímulo versus la presencia de 2 estímulos visuales presentados en secuencia. Para evaluar la significancia estadística de las diferencias se utilizó la prueba de t de student.

RESULTADOS

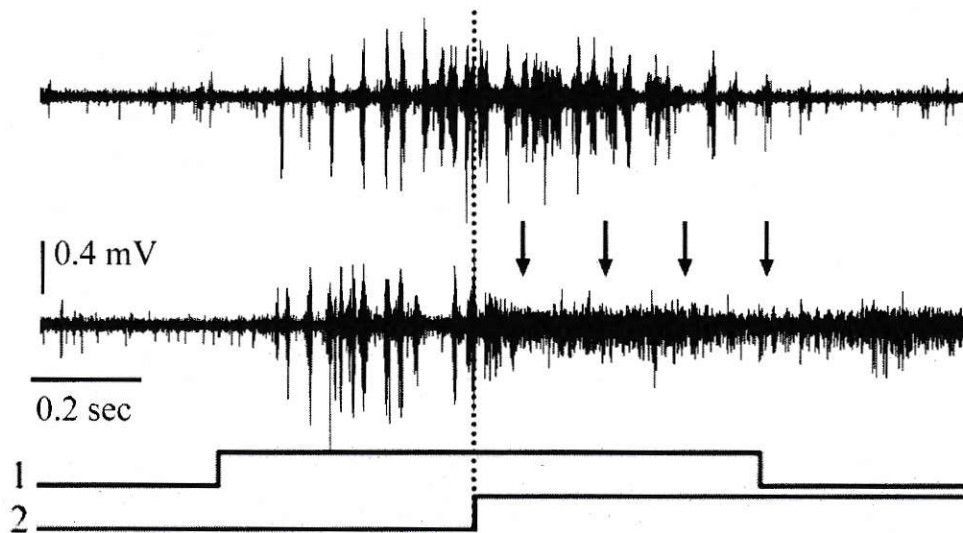
Los campos receptivos de las neuronas en Ipc son de forma redonda u ovalada, generalmente con un radio entre 15 a 25 grados. Dentro de su campo receptivo, las neuronas en Ipc responden a los estímulos transitorios, como el flash de un círculo de luz y a los estímulos en movimiento, que provocan en ambos casos una descarga en DOR de potenciales de acción que dura 100 a 200 ms en el caso del flash y tanto como dura la estimulación en el caso del movimiento (ver Figura 3; ver también (Maczko y col., 2006)).

En la situación de competencia de estímulos, encontramos que la respuesta a un estímulo visual presentado en el campo receptivo correspondiente a un locus de prueba en Ipc era fuertemente inhibida cuando aparecía un segundo estímulo, que llamaremos distractor, en otra zona de la pantalla. Como se muestra en la Figura 4, cuando el estímulo distractor comienza a moverse mientras el primer estímulo en el sitio de prueba se encuentra en la mitad de su trayectoria, la respuesta DOR en el locus de prueba cesa o disminuye fuertemente (n=15, en 8 palomas). Esta inhibición se produce con distractores que se presentan a una distancia de hasta 100 grados de separación del campo receptivo del sitio de prueba.

En experimentos de registro simultáneo de dos loci separados de Ipc encontramos que concurrentemente con la inhibición de la respuesta DOR en el locus de prueba aparecía una potente actividad DOR en el registro del locus distractor (n=12, en 7 palomas). Aunque la latencia de la inhibición respecto al inicio de la respuesta en el

locus distractor es variable (de 30 a 100 ms), la inhibición de la respuesta DOR en el sitio de prueba coincide con el inicio de la descarga de DOR en el sitio distractor.

Figura 4. Competencia de estímulos simultáneos en Ipc



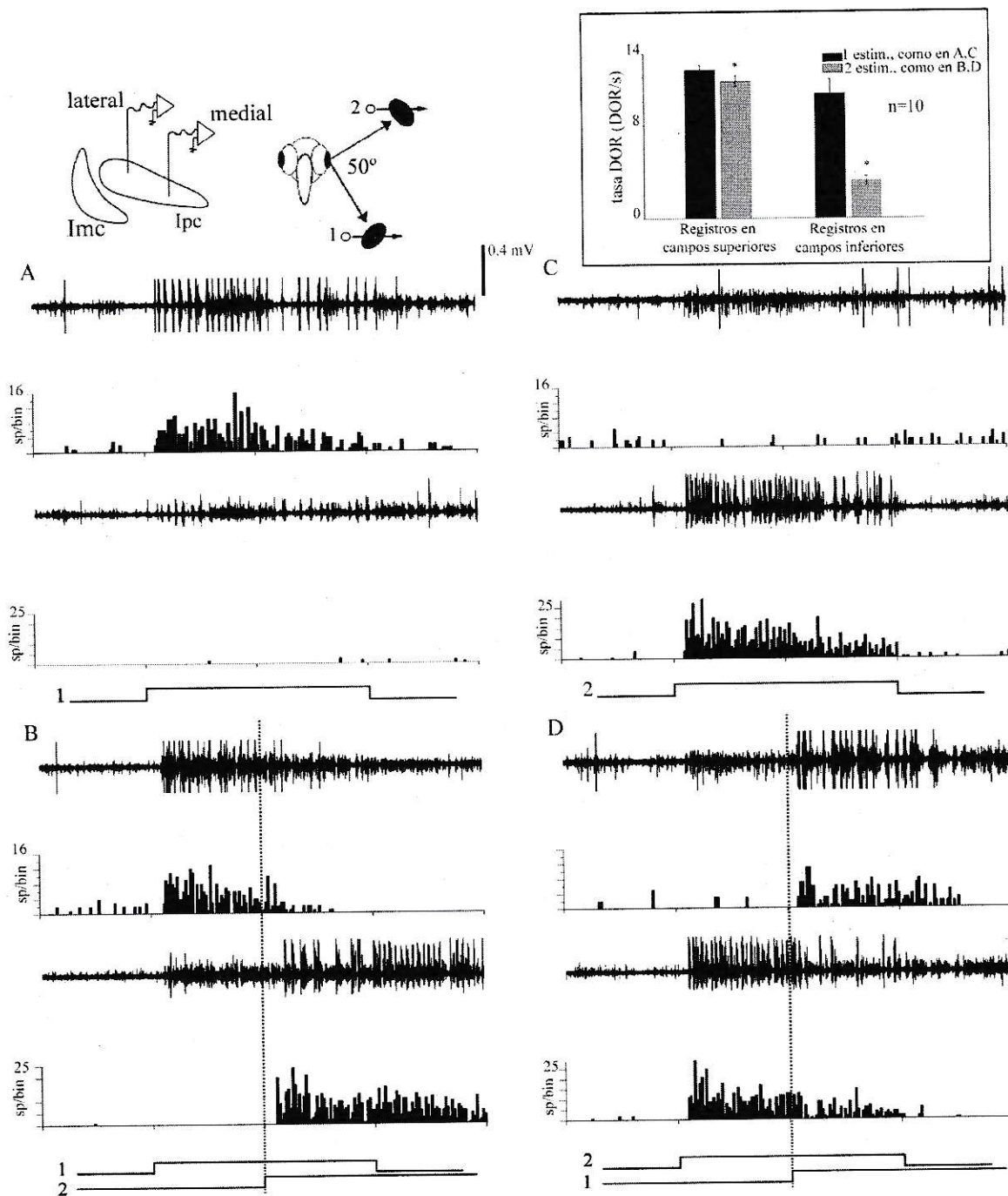
El trazo superior muestra el registro extracelular de la actividad burst en Ipc provocada por el movimiento de un punto de 2 grados dentro del campo receptivo del sitio de registro (1). El trazo inferior muestra el registro en el mismo sitio anterior pero con un segundo estímulo, idéntico al anterior, que se comienza a mover cuando el primero se encuentra en la mitad de su recorrido (2). Este segundo estímulo suprimió la respuesta burst en el primer sitio de registro. La actividad burst fue reemplazada por una descarga de actividad de alta frecuencia (HF) de baja amplitud, que se muestra con las flechas en el registro.

La inhibición de la actividad DOR en un primer sitio de Ipc por la estimulación visual en un segundo sitio es asimétrica. La presentación de un estímulo distractor en campos receptivos ubicados en zonas centrales y superiores del campo visual siempre inhibió significativamente (70 % de inhibición promedio, prueba pareada de t, $p < 0,005$; $n = 10$) la respuesta DOR en sitios de prueba con campos receptivos inferiores (Figura 5, recuadro). En cambio, la estimulación de campos receptivos inferiores produjo menos inhibición (8 % de inhibición, prueba de T pareada, $p < 0.005$, $n=10$) de las respuestas DOR de campos centrales o superiores (Figura 5, recuadro), a menos que éstos se encontrasen en una posición menos inferior, alrededor del meridiano horizontal del campo visual. En los casos en que ambos campos receptivos se encuentran en el campo visual central o superior, el segundo estímulo usualmente suprime al primero. Cuando ambos estímulos comienzan simultáneamente, ambas respuestas decreentan. Los mismos resultados fueron obtenidos en registros duales en TO (18 registros en 4 palomas, datos no mostrados), un reflejo del hecho que los DOR tectales son una manifestación de los terminales en cepillo de Ipc en TO (Marin y col., 2005).

La supresión de la actividad tipo DOR de un locus en Ipc por un segundo estímulo visual es acompañada por la aparición de una forma característica de actividad de alta frecuencia (HF) registrada en el locus suprimido, que permanece mientras dura la estimulación con el distractor. Esta consiste en unas espigas negativas (100-400 μV), que descargan a una frecuencia dominante de 500 a 700 Hz. Esta actividad sólo aparece durante la estimulación visual y es claramente generada por elementos neuronales distintos de las neuronas que producen las respuestas tipo DOR. Hipotetizamos que esta

actividad se produce por la descarga simultánea de los terminales GABAérgicos de Imc en Ipc, y por lo tanto revelaría la acción inhibitoria provocada por un estímulo periférico sobre la respuesta DOR central (Marin y col., 2005). Esta actividad HF también se produce cuando el estímulo se mueve fuera de los bordes del campo receptivo de Ipc.

Figura 5. Las interacciones supresivas durante la competencia de estímulo son asimétricas



Registro duales de actividad DOR en Ipc con electrodos de tungsteno separados por 0,75 mm en el eje medio-lateral. Como se observa en el esquema, los campos receptivos respectivos estaban separados 50° en el eje inferior-superior del campo visual del animal. En cada panel, el trazo superior corresponde al sitio de registro medial (campo receptivo inferior), y el trazo inferior corresponde al sitio de registro lateral (campo receptivo superior). Debajo de cada trazo se muestra un histograma acumulativo de 10 repeticiones del estímulo. El estímulo se presentó en un sitio por separado o simultáneamente en ambos sitios con un desfase de tiempo, como se grafica en los trazos bajo cada panel. **A**, el movimiento de un estímulo en el campo receptivo inferior provocó respuesta DOR de gran amplitud en el sitio de registro medial. **B**, el movimiento de un segundo estímulo en el campo receptivo superior suprimió en el sitio inferior la respuesta DOR provocada por el estímulo en movimiento ($p < 0,001$, prueba de t pareada) y provocó una respuesta DOR de gran amplitud en el sitio de registro lateral. **C**, el movimiento de un estímulo provocó respuestas DOR de gran amplitud en el sitio de registro lateral. **D**, el movimiento de un estímulo en el campo receptivo inferior produjo una supresión menor, pero significativa, de la respuesta al primer estímulo presentado en el campo receptivo superior ($p < 0,001$, prueba de t pareada). **Recuadro**, resumen de los resultados obtenido en las 10 repeticiones de este experimento, en 6 animales, para campos receptivos separados entre 45 y 100 grados. Campos receptivos superiores y centrales provocaron una mayor supresión sobre la respuesta DOR de campo receptivos inferiores, mientras que la estimulación inversa produjo una débil inhibición, siendo ambas diferencias significativas (*, $p < 0,005$, prueba de t pareada).

Una serie de observaciones indican que la actividad HF efectivamente es producida por los terminales de Imc en Ipc. En primer lugar, para un locus dado en Ipc, la actividad HF de mayor amplitud se produce por la estimulación visual en la zona central y superior del campo visual, las mismas regiones que inducen una fuerte inhibición sobre las neuronas de Ipc con campos receptivos inferiores. En segundo lugar, aunque en los registros simultáneos en Ipc los electrodos pueden estar separados por más de 1 mm, casi la mitad de la extensión del núcleo, éstos registran la actividad HF con una sincronización de fase casi completa. En tercer lugar, un trabajo anterior de nuestro laboratorio consistente en registros simultáneos en Ipc (extracelular) y en neuronas de Imc (8 registros extracelulares, 4 intracelulares), muestra que la descarga de alta

registrada en Ipc. Este mismo resultado se obtuvo al registrar desde axones de Imc dentro de Ipc usando pipetas finas. Los axones se identificaron por su campo receptivo elongado, orientado verticalmente, en contraste a los campos redondeados de las células de Ipc.

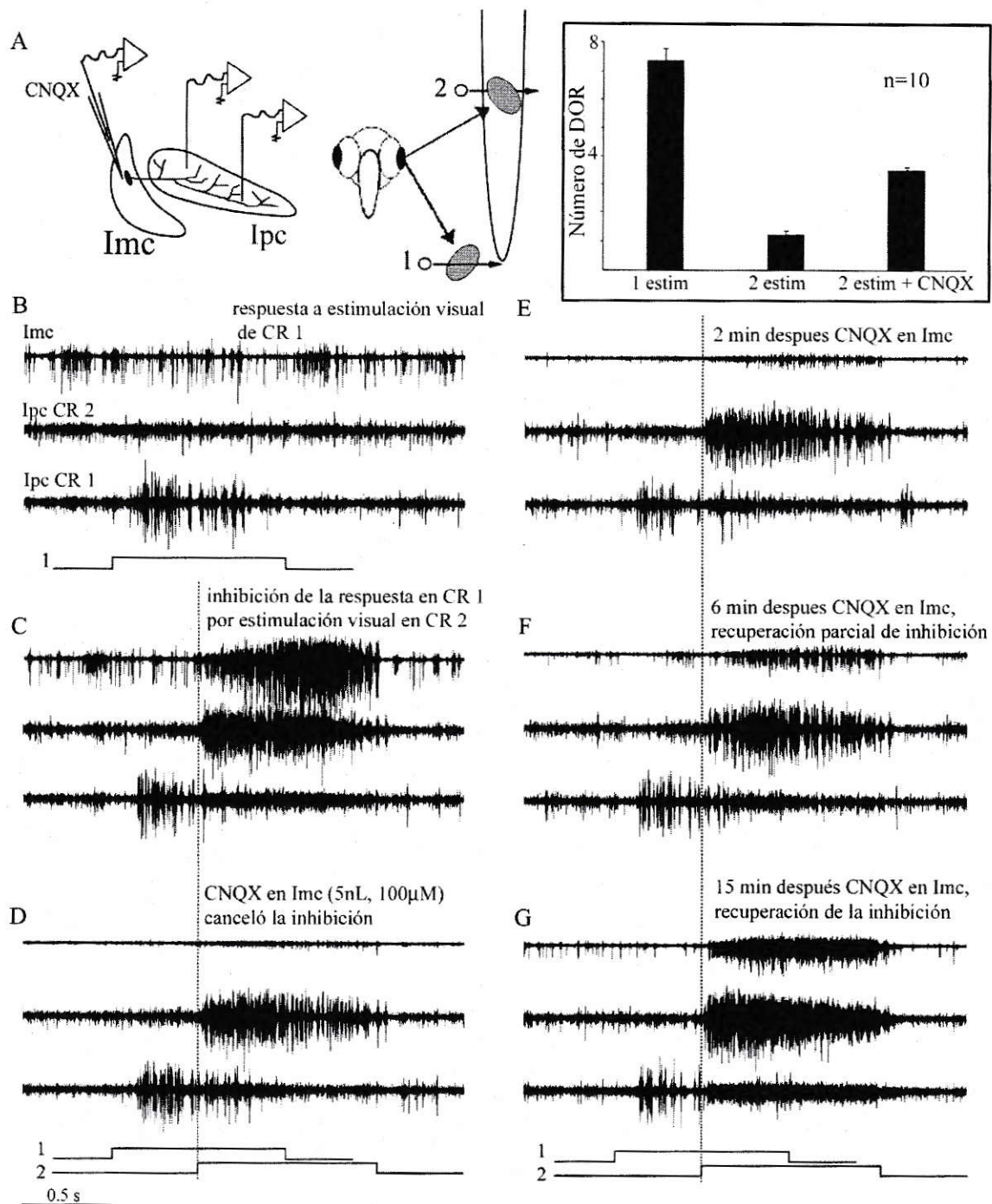
Los registros en Imc muestran además que las neuronas en este núcleo son altamente sensibles al movimiento dentro de su campo receptivo, el cual es alargado (15 a 20 grados de ancho por 80 a 120 grados de alto) y se orienta verticalmente con respecto a la posición normal de la cabeza del animal (Wang y Frost, 1991; Li y col., 2006). Al mover un estímulo visual dentro del campo receptivo de un locus en Imc se obtienen respuestas distintas dependiendo de la zona del campo receptivo estimulada. En la zona central y superior del campo receptivo las células responden con trenes de espigas de alta frecuencia (500-700 Hz), similar a la actividad HF registrada en Ipc. La estimulación del campo receptivo en regiones más inferiores provoca trenes de espigas de menor frecuencia.

Con el fin de comprobar directamente la actividad supresora de Imc sobre regiones activas de Ipc, se inactivó localmente distintos locus en Imc. La aplicación de 5-10 nL de CNQX eliminó la respuesta a estímulos visuales en Imc reversiblemente en 10 casos probados en 10 palomas. La duración de esta inactivación fue de entre 3 a 10 minutos y fue registrada con el mismo electrodo utilizado para inyectar la droga. Además, la inactivación local de Imc elimina también la actividad HF registrada durante la estimulación visual en Ipc

Cuando un estímulo se desplazó a través de la parte del espacio visual correspondiente a la franja visual inactivada, correspondiente a los campos receptivos de

las neuronas inactivadas en Imc, aún provocó la descarga DOR en el correspondiente locus de Ipc. Sin embargo, cuando este estímulo actuaba como distractor indujo una menor inhibición, y en un caso ninguna inhibición, de la actividad DOR provocada previamente cuando un estímulo de prueba era presentado en los alrededores (Figura 6). En promedio, la supresión de DOR por el segundo estímulo pasó desde un 84% a un 50% durante el efecto de la droga, y se recuperó a medida que las respuestas visuales en el sitio inactivado de Imc se restablecieron (Figura 6, recuadro).

Figura 6. La inactivación de Imc disminuye la inhibición de la actividad DOR durante la competencia de estímulos



La supresión de la actividad DOR en Ipc es fuertemente disminuida por la inactivación de Imc. Dos electrodos de tungsteno fueron ubicados en el eje medio-lateral de Ipc, registrando la actividad multiunitaria en ambos sitios. Los correspondientes campos receptivos estaban separados 65° en el eje inferior-superior del campo visual. Un tercer electrodo, de registro e inyección, registró la actividad multiunitaria en un sitio de Imc. Como se muestra en el esquema A, el campo receptivo colectivo en el sitio de Imc tiene un campo elongado superpuesto con el campo receptivo superior de Ipc (2). En los paneles B-G el trazo superior corresponde al registro de Imc, y el trazo medio e inferior al campo receptivo lateral (CR2) y medial (CR1) de Ipc, respectivamente. Cada trazo representa la superposición de los registros correspondientes a 5 repeticiones del estímulo. El inicio de la estimulación se muestra en un esquema debajo de cada panel. La línea de puntos vertical indica el comienzo del segundo estímulo. B, respuesta al estímulo visual en el campo receptivo medial solamente (CR1). C, el movimiento de un estímulo en el campo receptivo superior (CR2) suprimió la respuesta al estímulo presentado en el campo receptivo inferior (CR1). D, inactivación de Imc por CNQX canceló casi completamente la inhibición mostrada en C. E,F,G, la inhibición se reestableció, junto con la respuesta a estímulo visuales en Imc, después de alrededor de 15 minutos de recuperación. Nótese que la actividad HF en Ipc primero disminuyó con la aplicación de CNQX en Imc, y luego se incrementó durante el periodo de recuperación. **Recuadro**, resumen de seis repeticiones de este experimento en cinco animales. La cancelación de la inhibición inducida por el segundo estímulo disminuyó significativamente durante la inactivación local de Imc (prueba de t pareada, $p < 0,005$).

DISCUSIÓN

En este estudio, encontramos que las respuestas DOR provocadas por la estimulación visual en un sitio de Ipc son inhibidas por la aparición de un segundo estímulo visual en un lugar distante dentro del campo visual de la paloma. En la situación de competencia de estímulos, observamos que la inhibición de la respuesta DOR en un sitio por la aparición de un estímulo lejano en el espacio visual era asimétrica. La aparición de estímulos distractores en campos superiores y centrales generó, en promedio, un porcentaje de inhibición mayor sobre estímulos de prueba en campos inferiores que en la situación inversa. Dado que las palomas son aves granívoras que se alimentan principalmente en el suelo, esta asimetría podría resultar conveniente, por ejemplo, frente a la aparición de un depredador o en otros casos cuando el estímulo visual se encuentra sobre el horizonte.

Encontramos además que durante la competencia de estímulos la actividad DOR en el locus de prueba fue siempre reemplazada por una actividad de alta frecuencia característica (HF), inducida por el estímulo visual distractor. Los resultados obtenidos con estos experimentos, en conjunto con datos obtenidos en experimentos previos de nuestro laboratorio, indican concluyentemente que la HF es una manifestación de la actividad de los axones terminales de Imc en Ipc. En primer lugar, la actividad HF de mayor intensidad se produce con la estimulación visual de zonas centrales y superiores del campo visual, que coinciden con las que ejercen una mayor inhibición de la respuesta DOR. En segundo lugar, se encontró que la actividad HF registrada en loci separados en Ipc coincide con el aumento de la descarga de neuronas y fibras de Imc,

que evidencia la extensa proyección de las neuronas de Imc sobre Ipc. Y, finalmente, la eliminación de las respuestas visuales en un locus de Imc mediante la aplicación de CNQX elimina la actividad HF registrada en Ipc en la zona del campo visual correspondiente con el locus de Imc inactivado.

La aplicación de CNQX en Imc bloquea las respuestas visuales en este núcleo y simultáneamente disminuye la inhibición de la actividad DOR de un sitio sobre otro durante la situación de competencia de estímulos. Aunque el efecto de la aplicación de CNQX es evidente, la reducción en la cancelación de la inhibición de un locus sobre otro en la situación de competencia de estímulos puede ser explicada por una inactivación insuficiente de Imc. Ésto debido al uso de una cantidad baja de CNQX para prevenir la difusión de este fármaco hacia Ipc. Concordante con esta suposición es el hecho que en los casos donde no se alcanzó una cancelación total de la inhibición, la aparición del estímulo distractor en el campo visual generó en el sitio del locus de prueba actividad HF. Además podemos hipotetizar que existen mecanismos complementarios de este sistema que no se ven afectados por la aplicación de CNQX, como interacciones laterales de neuronas horizontales GABAérgicas que han sido descritas en TO (Luksch y Golz, 2003) que podrían estar actuando sobre neuronas NB. Al respecto, se ha mostrado que la presencia de acetilcolina libera GABA en el colículo superior de ratones (Endo y col., 2005). Otros mecanismos que podrían estar involucrados en el proceso son la participación de otros receptores glutamatérgicos no modificables por CNQX. También podrían ocurrir interacciones inhibitorias mutuas entre las neuronas en Imc, sugeridas por la presencia de terminales sinápticos inmunoreactivos a GABA presentes en el cuerpo celular de estas neuronas y en sus

dendritas (Tombol y Nemeth, 1998) y demostrados por evidencia fisiológica directa (Wang y col., 2006).

La dinámica de este circuito neuronal establecido entre NI y TO calza con el funcionamiento de un modelo denominado circuito ganador-toma-todo (GTT). Este circuito es un esquema conceptual frecuentemente usado en modelos de selección de estímulos y atención espacial en diversos sistemas (Koch y Ullman, 1985). El actuar de un sistema GTT en el sistema TO-istmo ha sido propuesto por Sereno y Ulinski (Sereno y Ulinski, 1987) en tortugas, y en aves por Marín y col. (Marin y col., 2005). Koch y Ullman propusieron que las zonas del espacio visual potenciadas por un mecanismo atencional surgirían dentro de un mapa, denominado mapa de saliencia (MS), donde convergerían distintos circuitos neuronales. Cada uno de estos circuitos actuaría sobre este mapa afectando la posición del foco atencional. En el caso de este circuito en particular, el MS correspondería a TO, donde se encuentra una representación topográfica fina del espacio visual. Entre las aferencias aportadas por los distintos circuitos que convergen sobre el mapa MS están las aferencias de tipo sensorial que se establecerían en las primeras sinapsis y que codificarían variables como la posición del estímulo, el tiempo de aparición de un estímulo dentro del campo visual, el movimiento, el color, etc. Otro tipo de influencias que convergerían en el mapa MS son las aferencias provenientes de áreas telencefálicas que actúan sobre TO. Estas aferencias estarían relacionadas con el contexto o relevancia conductual en que aparecen los estímulos visuales, como por ejemplo, la tarea particular que el animal está realizando (para una revisión ver Egeth y Yantis, (Egeth y Yantis, 1997)). En el caso de la paloma, una serie de aferencias provenientes tanto del telencéfalo como de una serie de núcleos pretecales

y talámicos convergen en TO, y podrían modular la actividad de las neuronas NB, afectando así la operación del circuito istmo-tectal.

Queda aún por ver si dentro del circuito de retroalimentación formado por TO e Ipc, el locus de Ipc produce la retroalimentación positiva precisamente sobre su aferencia tectal. En este caso, la red istmo tectal podría constituirse como un mecanismo GTT genuino, amplificando pequeñas diferencias entre los estímulos visuales entrantes y convergiendo rápidamente en un locus ganador, el que podrá transformarse en el foco atencional.

CONCLUSIONES

Los resultados de los experimentos realizados sugieren que la retroalimentación colinérgica de Ipc en TO frente a un estímulo en movimiento podría ser parte de un sistema de atención visual en tanto la aparición de un estímulo nuevo en el campo visual desplaza esta modulación colinérgica desde el primer sitio estimulado hacia el sitio en TO donde se encuentra representado el nuevo estímulo. Este desplazamiento se debe en parte al efecto inhibitorio que ejerce Imc sobre Ipc y TO a través de sus amplias proyecciones GABAérgicas. La modulación colinérgica ejercida por los terminales en cepillo activos a través de una columna en TO podría actuar como agente sincronizador entre las distintas capas tectales, afectando las eferencias pre-motoras descendentes y a las ascendentes que se dirigen hacia el telencéfalo.

Es importante recalcar que la operación de este circuito da cuenta sólo de una dimensión de la selección espacial de estímulos. Hasta aquí no se han considerado el actuar de otras modalidades sensoriales en la selección de estímulos ni la selección de estímulos de distintas clases, lo que aumenta la complejidad del sistema. Un reciente trabajo (Maczko y col., 2006) demuestra que las respuestas en DOR en Ipc de la lechuza son visuales y auditivas. Dado que la lechuza en condiciones de oscuridad usa preferentemente la audición para localizar espacialmente los estímulos, este resultado refuerza la hipótesis propuesta en este trabajo que el circuito GTT es un mecanismo fundamental de orientación espacial en aves y quizás también en otros vertebrados.

BIBLIOGRAFIA

- Armstrong, K.M., y Moore, T. 2006. Changes in visual receptive fields with microstimulation of the superior colliculus. *Neuron* **50**: 791-798
- Awh, E., Armstrong, K.M., y Moore, T. 2006. Visual and oculomotor selection: links, causes and implications for spatial attention. *Trends in Cognitive Sciences* **10**: 124-130
- Bender, D.B. y Youakim, M. 2001. Effect of attentive fixation in macaque thalamus and cortex. *Journal of Neurophysiology* **85**: 219-234
- Benowitz, L.I. y Karten, H.J. 1976. Organization of the tectofugal visual pathway in the pigeon: a retrograde transport study. *J Comp Neurol* **167**: 503-20
- Bergeron, A., Matsuo, S. y Guitton, D. 2003. Superior colliculus encodes distance to target, not saccade amplitude, in multi-step gaze shifts. *Nat Neurosci* **6**: 404-13
- Binns, K.E. y Salt, T.E. 2000. The functional influence of nicotinic cholinergic receptors on the visual responses of neurones in the superficial superior colliculus. *Vis Neurosci* **17**: 283-9
- Butler, A.B. 1994. The evolution of the dorsal thalamus of jawed vertebrates, including mammals: cladistic analysis and a new hypothesis. *Brain Res Brain Res Rev* **19**: 29-65
- Deco, G., Pollatos, O. y Zihl, J. 2002. The time course of selective visual attention: theory and experiments. *Vision Res* **42**: 2925-45
- du Lac, S. y Knudsen, E.I. 1990. Neural maps of head movement vector and speed in the optic tectum of the barn owl. *J Neurophysiol* **63**: 131-46
- Dudkin, E.A. y Gruberg, E.R. 2003. Nucleus isthmi enhances calcium influx into optic nerve fiber terminals in *Rana pipiens*. *Brain Res* **969**: 44-52
- Edwards, J.A. y Cline, H.T. 1999. Light-induced calcium influx into retinal axons is regulated by presynaptic nicotinic acetylcholine receptor activity in vivo. *Journal of Neurophysiology* **81**: 895-907
- Egeth, H.E. y Yantis, S. 1997. Visual attention: control, representation, and time course. *Annu Rev Psychol* **48**: 269-97
- Endo, T., Yanagawa, Y., Obata, K. y Isa, T. 2005. Nicotinic acetylcholine receptor subtypes involved in facilitation of GABAergic inhibition in mouse superficial superior colliculus. *J Neurophysiol* **94**: 3893-902
- Freedman, E.G., Stanford, T.R. y Sparks, D.L. 1996. Combined eye-head gaze shifts produced by electrical stimulation of the superior colliculus in rhesus monkeys. *J Neurophysiol* **76**: 927-52
- Gruberg, E., Dudkin, E., Wang, Y., Marin, G., Salas, C., Sentis, E., Letelier, J., Mpodosis, J., Malpeli, J., Cui, H., Ma, R., Northmore, D. y Udin, S. 2006. Influencing and interpreting visual input: the role of a visual feedback system. *J Neurosci* **26**: 10368-71
- Gunturkun, O. y Remy, M. 1990. The topographical projection of the nucleus isthmi pars parvocellularis (Ipc) onto the tectum opticum in the pigeon. *Neurosci Lett* **111**: 18-22

- Ignashchenkova, A., Dicke, P.W., Haarmeier, T. y Thier, P. 2004. Neuron-specific contribution of the superior colliculus to overt and covert shifts of attention. *Nature Neuroscience* **7**: 56-64
- Karten, H.J., Cox, K. y Mpodozis, J. 1997. Two distinct populations of tectal neurons have unique connections within the retinotectorotundal pathway of the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* **387**: 449-65
- Karten, H.J. y Hodos, W. 1967. *En* Johns Hopkins Press (eds.), A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon, *Columba livia*. ppix, 193
- King, W.M. y Schmidt, J.T. 1991. The long latency component of retinotectal transmission: enhancement by stimulation of nucleus isthmi or tectobulbar tract and block by nicotinic cholinergic antagonists. *Neuroscience* **40**: 701-12
- Knudsen, E.I. 1982. Auditory and visual maps of space in the optic tectum of the owl. *J Neurosci* **2**: 1177-94
- Koch, C. y Ullman, S. 1985. Shifts in selective visual attention: towards the underlying neural circuitry. *Hum Neurobiol* **4**: 219-27
- Krutzfeldt, N.O. y Wild, J.M. 2005. Definition and novel connections of the entopallium in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* **490**: 40-56
- Kustov, A.A. y Robinson, D.L. 1996. Shared neural control of attentional shifts and eye movements. *Nature* **384**: 74-77
- Letelier, J.C., Marin, G., Sentis, E., Tenreiro, A., Fredes, F. y Mpodozis, J. 2004. The mapping of the visual field onto the dorso-lateral tectum of the pigeon (*Columba livia*) and its relations with retinal specializations. *J Neurosci Methods* **132**: 161-8
- Li, D.P., Xiao, Q. y Wang, S.R. 2006. Feedforward Construction of the Receptive Field and Orientation Selectivity of Visual Neurons in the Pigeon. *Cereb Cortex*
- Luksch, H. y Golz, S. 2003. Anatomy and physiology of horizontal cells in layer 5b of the chicken optic tectum. *J Chem Neuroanat* **25**: 185-94
- Maczko, K.A., Knudsen, P.F. y Knudsen, E.I. 2006. Auditory and visual space maps in the cholinergic nucleus isthmi pars parvocellularis of the barn owl. *Journal of Neuroscience* **26**: 12799-12806
- Marin, G., Letelier, J.C., Henny, P., Sentis, E., Farfan, G., Fredes, F., Pohl, N., Karten, H. y Mpodozis, J. 2003. Spatial organization of the pigeon tectorotundal pathway: an interdigitating topographic arrangement. *J Comp Neurol* **458**: 361-80
- Marin, G., Mpodozis, J., Sentis, E., Ossandon, T. y Letelier, J.C. 2005. Oscillatory bursts in the optic tectum of birds represent re-entrant signals from the nucleus isthmi pars parvocellularis. *J Neurosci* **25**: 7081-9
- Masino, T. y Knudsen, E.I. 1993. Orienting Head Movements Resulting from Electrical Microstimulation of the Brain-Stem Tegmentum in the Barn Owl. *Journal of Neuroscience* **13**: 351-370
- Moore, T., Armstrong, K.M. y Fallah, M. 2003. Visuomotor origins of covert spatial attention. *Neuron* **40**: 671-683
- Muller, J.R., Philiastides, M.G. y Newsome, W.T. 2005. Microstimulation of the superior colliculus focuses attention without moving the eyes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 524-529

- Neuenschwander, S., Engel, A.K., Konig, P., Singer, W. y Varela, F.J. 1996. Synchronization of neuronal responses in the optic tectum of awake pigeons. *Vis Neurosci* **13**: 575-84
- Neuenschwander, S. y Varela, F.J. 1993. Visually triggered neuronal oscillations in the pigeon: an autocorrelation study of tectal activity. *Eur J Neurosci* **5**: 870-81
- Posner, M.I. y Petersen, S.E. 1990. The attention system of the human brain. *Annu Rev Neurosci* **13**: 25-42
- Sapir, A., Soroker, N., Berger, A. y Henik, A. 1999. Inhibition of return in spatial attention: direct evidence for collicular generation. *Nat Neurosci* **2**: 1053-4
- Sato, T.R., Watanabe, K., Thompson, K.G. y Schall, J.D. 2003. Effect of target-distractor similarity on FEF visual selection in the absence of the target. *Experimental Brain Research* **151**: 356-363
- Sereno, M.I. y Ulinski, P.S. 1987. Caudal topographic nucleus isthmi and the rostral nontopographic nucleus isthmi in the turtle, *Pseudemys scripta*. *J Comp Neurol* **261**: 319-46
- Shipp, S. 2004. The brain circuitry of attention. *Trends in Cognitive Sciences* **8**: 223-230
- Tombol, T., Eyre, M., Zayats, N. y Nemeth, A. 2003. The ramifications and terminals of optic fibres in layers 2 and 3 of the avian optic tectum: a golgi and light and electron microscopic anterograde tracer study. *Cells Tissues Organs* **175**: 202-22
- Tombol, T. y Nemeth, A. 1998. GABA-immunohistological observations, at the electron-microscopical level, of the neurons of isthmie nuclei in chicken, *Gallus domesticus*. *Cell Tissue Res* **291**: 255-66
- Treue, S. 2001. Neural correlates of attention in primate visual cortex. *Trends Neurosci* **24**: 295-300
- Wang, Y., Luksch, H., Brecha, N.C. y Karten, H.J. 2006. Columnar projections from the cholinergic nucleus isthmi to the optic tectum in chicks (*Gallus gallus*): a possible substrate for synchronizing tectal channels. *J Comp Neurol* **494**: 7-35
- Wang, Y., Major, D.E. y Karten, H.J. 2004. Morphology and connections of nucleus isthmi pars magnocellularis in chicks (*Gallus gallus*). *J Comp Neurol* **469**: 275-97
- Wang, Y.C. y Frost, B.J. 1991. Visual response characteristics of neurons in the nucleus isthmi magnocellularis and nucleus isthmi parvocellularis of pigeons. *Exp Brain Res* **87**: 624-33