

UCH-FC
DOC-BMCN
A 287
C. 1

**“Estudio del sistema Colotalámico en aves: Organización anatómica del
Nidopalio y su relación con el *Mesopalio*”**



**Tesis
Entregada A La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De**

**Doctor en Ciencias con Mención en Biología Molecular, Celular Y
Neurociencias**

Facultad De Ciencias

Por

Patricio Eduardo Ahumada Galleguillos

Mayo 2012

**Director de Tesis: Dr. Jorge Mpodozis M.
Co-director de Tesis: Dr. Juan Carlos Letelier P.**

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por la candidata.

Patricio Eduardo Ahumada Galleguillos

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Biología Molecular Celular y Neurociencias, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día: 18 enero 2012.

Director de Tesis: Dr. Jorge Mpodozis M.


.....
Mpodozis

Co-Director de Tesis: Dr. Juan Carlos Letelier P.

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Adrian Palacios

Dr. Pedro Maldonado

Dr. Fernando Torrealba

Dr. Bernardo Morales




.....
P. Maldonado

.....

Este trabajo se lo dedico a mi familia.



Biografía:

Nací el año 1979 en el Hospital San Juan de Dios ubicado en la comuna de Santiago. La educación básica y media la realicé en los colegios Paicavi* y Santa María, respectivamente. Ingrese el año 1999 al programa de Licenciatura de Ciencias con mención en Biología, de Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. El año 2004 fui aceptado en el programa de Doctorado en Ciencias (BMCN)** que ofrece la misma Facultad. Desde entonces, he permanecido como estudiante del Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer. Éste es el segundo intento para obtener el grado de doctor en Ciencias. El primero lo impidió un voraz incendio.

* Junta de paz.

** Mención en Biología Molecular, Celular y Neurociencias.

Agradecimientos:

Agradezco en primer lugar a la Universidad de Chile y especialmente a la Facultad de Ciencias con sus profesores. Los años que he permanecido en este lugar han sido de un permanente enriquecimiento cultural.

Agradezco a mi primera profesora de biología, Myriam Kaune. No podría ser esta una mejor instancia para hacerlo. Junto a su vocación pedagógica comenzó mi acercamiento hacia lo biológico.

Agradezco al laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, especialmente a los profesores Letelier, Marín y Mpodozis, de quienes he recibido un enorme caudal de conocimiento y una mirada amplia del mundo. Me parece que el "uno para todos y todos para uno" les queda bastante bien. Complementan a estos "mosqueteros" Solano Henríquez y Elisa Sentis. De ellos he aprendido mucho y se los manifiesto aquí con cariño, aunque sospecho que ellos ya lo saben. Particularmente, debo agradecer al profesor Jorge Mpodozis quien ha debido lidiar conmigo y de paso con cada uno de mis terribles manuscritos, eso sí que es meritorio y me obliga a redoblar mis agradecimientos hacia él.

El impacto que ha tenido en mi vida el laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer podría resumirse diciendo que, mientras cursaba tercero medio, llegó hasta mis manos el libro titulado "El árbol del conocimiento", escrito por los profesores Humberto Maturana y Francisco Varela. Fue la profesora Kaune, que había sido alumna del postítulo "Biología del Conocer y de la Comunicación Humana" impartido en el laboratorio, quien me entregó este libro. Por lo tanto y de manera insospechada, la recursividad asociada a la difusión de las ideas del laboratorio resultaron determinantes para estar hoy entregando ésta tesis. Finalmente no encontré al profesor Maturana, pero sus (entonces) estudiantes son mis actuales maestros.

• **FINANCIAMIENTO:** Mecusv
CONICYT

702359M : OTMSINAIJUNANI 70
TYJINOJ

Agradezco significativamente el afecto y apoyo de toda mi familia. A mi abuela, mi madre, mis hermanos, primos y tíos. Su cariño y ejemplo han sido fundamentales siempre.

Además, durante mi estadía como alumno del doctorado, he formado junto a la *yoya* (Carmen Gloria) una nueva familia, a quienes agradezco y dedico este trabajo. Carmen Gloria, Vicente y Miguel Ángel son mi alegría y aliento constantes. Solo me queda por agradecer y destacar la ayuda y talento de la *yoya*, puesto que participo activamente en la obtención de imágenes fundamentales para ésta tesis. Extiendo estos agradecimientos al laboratorio del profesor Miguel Concha, por su generosa colaboración.

Índice

Introducción	1
1. Vías sensoriales en amniotas	1
2. Palio en amniotas: Divergencias y conservación	4
3. Antecedentes del sistema colotalámico visual en amniotas	11
3.1a. Proyección colotalámica visual en sauropsidos	11
3.1b. ¿Una segunda vía colofugal visual en aves?	16
3.1c. Colopalio visual en sauropsidos	19
3.1d. Colopalio (Nidopalio) recipiente de la proyección desde DLP	20
3.2a. Proyección colotalámica visual en mamíferos	21
3.2b. Colopalio visual en mamíferos	22
4. Antecedentes del sistema colotalámico auditivo en amniotas	23
4.1a Proyección colotalámica auditiva en sauropsidos	23
4.1b Colopalio auditivo en sauropsidos	23
4.2a Proyección colotalámica auditiva en mamíferos	27
4.2b Colopalio auditivo mamíferos	27
5. Hipótesis	28
6. Objetivos	29
Materiales y Métodos	30
1. Inyecciones de colerotoxina en paloma	30

1.2 Procedimiento histológico	32
2. Inyecciones de DiI en palomas	33
3. Deposito manual de cristales de biocitina en pollos	33
4. Llenado intracelular	36
5. Registro y análisis de los resultados	37
6. Cámara lúcida	38
Resultados	39
1. Organización nidopalial de las proyecciones colotalamicas visuales	39
1. a. Inyecciones de DiI	39
1. b. Inyecciones de CTB	47
2. Proyección de Triangularis y DLP al entopalio medial	54
3. Organización de los axones rotundales a nivel nidopalial	58
4. Organización modular y reciproca en el sistema Nidopalio/Mesopalio	64
4.1. Caracterización de las celulas entopaliales	75
4.2. Conectividad reciproca en región medial del sistema entopalio/mesopalio	93
Discusión	99
1. Nidopalio visual: Estructura y límites	99
1.1. Organización general del nidopalio colorecipiente	99
1.2. El “nidopalio visual” incluye al entopalio y nidopalio intermedio	100
1.3 La proyección rotundal como criterio organizador del nidopalio visual	102

2. Organización del coloplio en aves	108
2.1 Consistencia citoarquitectónica a través de las regiones colopaliales	108
2.2. Entopolio	110
2.3 Mesopolio	111
3. El nidopolio intermedio (NI) es una zona de convergencia para las aferencias cólicas y mesopaliales	112
4. Implicancias de nuestros resultados	115
4.1 Palio medial: ¿Homologías entre territorios de palio dorsal de aves mamíferos y reptiles?	115
4.2. Palio lateral	116
a. Hipótesis claustro-amigdalar	117
b. Hipótesis nuclear a laminar	118
5. Concepto de columna neocortical como principio distintivo de mamíferos	119
6. Apuntes sobre el desarrollo del palio de aves	122
7. Epilogo	125
Referencias	127
Apéndice: Figuras complementaria	

Figuras

Nº1: Esquema de las vías visuales en amniotas	2
Nº2: Esquema de las vía auditiva en amniotas	3
Nº3: Evolución del palio en tetrápodos	5
Nº4: Palio en amniotas	7
Nº5: Patrón de expresión de genes homeoticos en telencéfalo de mamíferos y aves	9
Nº6: Organización del DVR	10
Nº7: Proyecciones colotalámicas en aves	13
Nº8: Subdivisiones del núcleo rotundus	14
Nº9: Organización rostro-caudal del entopalio	15
Nº10: Región terminal nidopalial de DLP	17
Nº11: Organización anatómica y aferencias del complejo auditivo Field	25
Nº12: Organización “columnar” en el complejo Field L/CM en pollo	26
Nº13: Rebanada coronal de cerebro de pollo: Método de inyección	35
Nº14: Inyecciones de DiI en palomas, <i>in vivo</i>	40
Nº15: Topografía dorso-ventral de la proyección rotundus – entopalio	43
Nº16: Proyección rotundal al nidopalio intermedio (NI) anterior	45
Nº17: Proyección rotundal al nidopalio intermedio (NI)	46
Nº18: Topografía medio-lateral de la proyección rotundus-nidopalio visual	48
Nº 19: Proyección desde el rotundus al entopalio lateral	49
Nº 19b: Proyección rotundal al nidopalio intermedio y lateral	50
Nº 20: Proyección de triangularis al nidopalio visual medial	51

N°21: Topografía medial-lateral de las proyecciones tálamo-nidopaliales	52
N°21b: Terminales rotundas en el nidoplio intermedio	53
N° 22: Proyección desde triangularis al nidoplio medial	55
N° 24: Región terminal de triangularis	56
N° 25: Proyección desde el rotundus al entoplio lateral	57
N° 26: Región terminal nidopalial de triangularis y DLP	59
N° 27: Organización de axones rotundas en el entoplio	61
N° 28: Organización de axones rotundas en el entoplio	62
N° 29: Organización de axones rotundas en el entoplio	63
N° 34: Esquemas coronales del telencéfalo central y posterior de pollo	65
N°35: Esquema sagital del telencéfalo de pollo	67
N°36: Proyección entoplio-mesoplio	69
N°38: Neurona de proyección entopalial	70
N°39: Neurona de proyección mesopalial	71
N°40a: Organización de las proyecciones ento-mesopaliales	72
N°41: Organización de las proyecciones ento-mesopaliales	73
N°42: Organización de las proyecciones ento-mesopaliales	74
N°44: Topografía rostro-caudal de la proyección ento-mesopalial	76
N°45: Topografía rostro-caudal de la proyección entoplio-mesoplio	77
N°46: Columna sagital entoplio-mesoplio	78
N°49a: Conectividad mesoplio-entoplio	81
N°49b: Conectividad mesoplio-entoplio	82
N°49c: Conectividad mesoplio-entoplio	83
N°50: Morfología de neuronas entopaliales	84
N°51: Región terminal en mesoplio	87

N°52: Región mesopialial terminal y células entopialio-proyectantes	88
N°53: Neurona mesopialial de proyección	89
N°54a: Doble inyección de biocitina en el entopialio	90
N°55: Organización de axones mesopialiales	91
N°56: Terminal mesopialial en el NI y entopialio dorsal	92
N°57: Conectividad recíproca entre el sistema nidopialio/mesopialio medial	95
N°58: Conectividad recíproca entre el sistema nidopialio/mesopialio medial	96
N°59: Inyecciones en nidopialio medial	97
N°60: "Columnaridad" en la proyección entopialio medial- mesopialio	98
N°61: Organización de los axones rotundus-entopialiales	106
N°62: Modelo de organización de las proyecciones desde el núcleo rotundus al nidopialio visual	107
N°63: Modelo de organización del sistema colopialial visual	113
N°64: Comparación entre la organización del DVR auditivo y visual	114
N°65: Organización del DVR en embriones pollo	124

Tablas

Tabla 1: Inyecciones de DiI en palomas	41
Tabla 2: Inyecciones de biocitina en rebanadas coronales de cerebro de pollo	65
Tabla 3: Resumen de inyecciones de biocitina en la región medial del entopallio/nidopallio posterior	66
Tabla 4: Resumen de inyecciones de biocitina en el mesopallio ventro-medial (MVM) y mesopallio ventro-lateral	66
Tabla 5 y 6: Resumen de las inyecciones de biocitina en el sistema nido-mesopallial en rebanadas sagitales de cerebro de pollo	67

Abreviaciones

Arc: Arcopallio.
Amv: Arcopallio medial ventral
DLP: Núcleo Dorsal Lateral Posterior (visual-polisensorial)
E: Entopallio.
Ei: Entopallio interno.
Ex: entopallio externo.
FPL: Fascículo Proscencefalicus lateralis.
TSM: Tracto Septo Mecencefalicus.
GLv: Núcleo geniculado lateral ventral.
GP: Globus pallidus.
HP: Hiperpallio.
LM: Lamina mesopallial.
LPS: Lamina pallio subpallial.
M: Mesopallio.
N: Nidopallio.
ND: Nidopallio Intermedio.
Rt: Núcleo rotundus.
TeO: Tectum Óptico.
TO: Tracto óptico.
Ov: Núcleo ovoidalis.
DVR: Dorsal ventricular ridge.
CM: Mesopallio caudal.
Field L: Nidopallio auditivo.
NFL: Nidopallio Frontal Lateral.
NIL: Nidopallio intermedio Lateral.
NCL: Nidopallio caudo-lateral.
TPO: Área Temporo-parieto occipital

Resumen

El palio (del latín “manto”) es la región más rostral y dorsal del telencéfalo de vertebrados. En mamíferos, el palio es llamado también corteza cerebral, y se organiza a partir de la sobreposición de varias laminas citoarquitectónicamente distintas, relacionadas sinápticamente entre sí por medio de “columnas corticales”. Esto es, circuitos locales recurrentes dispuestos radialmente a la orientación de las láminas. En la literatura se considera a la corteza cerebral, y particularmente a la neocorteza, (seis láminas) como el sustrato neuronal fundamental y necesario para la realización de las elaboradas y complejas conductas perceptuales y cognitivas que caracterizan a este grupo de vertebrados. Interesantemente, amniotas no mamíferos (sauropsidos), y en particular las aves, exhiben conductas cognitivas y perceptuales tan complejas y elaboradas como las de mamíferos. Sin embargo, se ha descrito que la organización anatómica y funcional del palio de sauropsidos sería radicalmente distinta de aquella que caracteriza la corteza sensorial de mamíferos. Esto, debido a que hasta hace muy poco tiempo atrás se asumía que la organización del DVR era no laminar y carente de circuitos locales recurrentes. Además, las áreas sensoriales del palio aviar han sido consideradas como un grupo de núcleos relacionados de manera lineal con escasas presencia de circuitos recurrentes entre estos.

En la literatura se advierte un enorme desbalance entre el conocimiento estructural y operacional de la corteza mamiferiana y el palio de sauropsidos. Esto constituye una gran dificultad al intento de establecer estudios comparados que pudieran dar luces sobre el origen, correspondencia homológica, evolución y principios operacionales comunes de las estructuras páliales en amniotas. De este modo, la descripción del sustrato neuroanatómico que permitiría a animales como los cuervos (amniotas no mamíferos), exhibir un repertorio de complejas conductas perceptuales (y aún cognitivas), es un tema que recién comienza a ser entendido.

Por otro lado, un aspecto conservado en amniotas es la existencia de dos tipos de circuitos sensoriales independientes, correspondientes a las vías "Colotalámica" y "Lemnotalámica". Ambos sistemas alcanzan (por medio de proyecciones talámicas cólicas o lemniscales) regiones paliales específicas. La conservación de un modo de organización de las vías sensoriales en amniotas (argumento extendido a vertebrados) hace inevitable comparar aquellas regiones paliales que actúan como centros recipientes de cada uno de los sistemas de proyección, mencionados anteriormente. Esta tesis tiene como objetivo principal describir en detalle la organización anatómica del palio colorecipiente de aves. Además, pretendemos realizar un ejercicio comparativo, poniendo en contexto nuestros resultados con aquellos provenientes de las descripciones neuroanatómicas del colopalio (neocorteza) de mamíferos.

Uno de los componentes principales del palio de sauropsidos corresponde al DVR (*dorsal ventricular ridge*). En aves, el DVR está formado por una región interna (cercana al subpalio) conocida como nidopalio más una zona externa o dorsal, llamada mesopalio. La primera de estas regiones contiene centros recipientes primarios de las

proyecciones cólicas auditivas, visuales y polisensoriales. Trabajos recientes han descrito un sistema de proyecciones recíprocas, de corto alcance, entre las zonas nidopaliales colorecipientes y las aéreas mesopaliales inmediatamente adyacentes. Además, y muy significativamente, se ha mostrado la existencia de una organización “laminar” y de circuitos intrínsecos “columnares” en el DVR auditivo de aves (conocido como Field L) lo cual es semejante a la organización de la corteza auditiva primaria de mamíferos.

En esta tesis nos proponemos mostrar que es posible que este tipo de organización, caracterizada en Field L, se extienda a las otras regiones del colopallio sensorial. Para explorar esta posibilidad, hemos estudiado la organización del DVR visual de aves, atendiendo específicamente a las relaciones anatómicas entre el nidopallio visual (incluyendo la región principal conocida como Entopallio) y el mesopallio dorsal adyacente. Complementariamente, estudiamos la organización de las aferencias colotalámicas visuales y polisensoriales sobre el nidopallio colorecipiente. Esto nos ha permitido visualizar el modo en que se organiza el DVR visual de aves, en relación a sus dos fuentes de aferencias principales, las proyecciones colotalámicas por un lado y las mesopaliales por otro.

Metodológicamente desarrollamos una preparación “in vitro” de rebanadas de cerebro de pollo, lo cual nos ha permitido realizar pequeñas inyecciones de un trazador de alta sensibilidad en el nidopallio visual y el mesopallio adyacente. Complementamos lo anterior con inyecciones de trazadores anterogrados y retrógrados (in vivo), tanto en la región nidopallio como en el colotalamo visual y polisensorial (núcleos Rotundus y DLP, respectivamente).

Nuestros resultados muestran la existencia de un sistema de proyecciones reciprocas y ordenadas topográficamente, entre áreas nidopaliales colorecipientes (visual y multisensorial) y sus regiones mesopaliales correspondientes. Estas proyecciones forman "columnas" de axones orientadas radialmente que se expanden a través del colopallio siguiendo un ordenamiento topográfico en los ejes rostro-caudal y medio-lateral. Además, hemos confirmado que las proyecciones rotundales (visuales) terminan de manera estratificada (en al menos tres niveles diferentes), dentro del nidopallio visual (incluyendo el Entopallio), de manera similar a lo que ocurre con las aferencias auditivas (desde el núcleo Ovoidalis) dentro de Field L. Estas similitudes nos sugieren la existencia de un patrón citoarquitectonico común a todas las regiones del DVR sensorial. En términos comparados, nuestros resultados sugieren un importante grado de similitud entre la organización neuroanatómica del DVR sensorial de aves y el arreglo citoarquitectonico de la neocorteza sensorial de mamíferos. Establecer si lo anterior es reflejo de un patrón de conectividad ancestral o un caso de convergencia estructural, requiere de mayores antecedentes, fundamentalmente de otros grupos de amniotas tales como los reptiles.

Finalmente, creemos que nuestra investigación ha generado las bases para realizar estudios comparados mas fundamentados sobre la historia evolutiva y organización funcional del pallio en amniotas. Como paso siguiente, nuestros resultados invitan a explorar el posible significado fisiológico de la organización "columnar" del DVR sensorial de aves.

Abstract

The pallium (from the Latin "mantle") is the more rostral and dorsal region of the vertebrate telencephalon. In mammals this region, called cerebral cortex, is organized as a multilayered structure in which different layers are synaptically connected by radially oriented processes that form restricted columnar connections between laminae. The mammalian cerebral cortex, in particular the neocortex (a six layered structure), is considered the neural substrate of the elaborate perceptual discriminations and the complex cognitive behaviors characteristic of this group of vertebrates. Interestingly, sauropsids (non mammalian amniotes) and particularly birds, exhibit perceptual and cognitive behaviors whose complexity is equivalent as those described in mammals. However, the pallial region of non mammalian amniotes seems to be anatomically and physiologically very different from the sensory cortex, as it does not appear to be laminar, and no functional modules or recurrent local circuits have been described in it (until recently, see below). Instead, the avian pallial sensory areas have traditionally been considered as a set of linearly related nuclei lacking of recurrent interactions between them.

At present there is a huge asymmetry between what is known about the structural and functional organization of the pallium in mammals and sauropsids. This imbalance represents an important drawback in attempting to establish comparative studies about

the origin, homological correspondence, evolution and common operating principles of the pallial structures in amniotes. Thus, at present the neural substrate that allows to animals such as crows to display a complex repertoire of perceptual and cognitive behaviors is poorly understood.

A conservative feature of the amniotes brain is the existence of two anatomically segregated systems of sensorial projections, the "collothalamic" and "lemnthalamic" pathways. Both systems projects through specific thalamic nuclei toward different regions of the sensorial pallium. The conservative character of this sensory organization in amniotes promotes the comparison between those pallial centers that are in receipt of afferences form each of these systems in sauropsids and mammals. This thesis aims to describe in detail the anatomical organization of the colopallium of birds, a region that in mammals correspond to the sensory extrastriate cortex. Based in our results we will attempt a comparative exercise about the neuroanatomical organization of the colopallium birds and mammals.

One of the main components of the sauropsids pallium corresponds to dorsal ventricular ridge (DVR). In birds, the DVR is formed by an inner region (near to subpallium) known as nidopallium and a more dorsal area called mesopallium. The nidopallium contains areas that receive auditory visual and multi-sensory collothalamic projections. Recent works have shown the existence of a system of reciprocal, short-range projections between areas of the nidopallium and the adjacent mesopallium. Furthermore, and more significantly, it has been showed the existence of a laminar organization with columnar radial arrays forming recurrent intrinsic networks in the avian auditory DVR (known as Field L) similar to mammalian primary auditory cortex.

In this thesis we explore the hypothesis of that this type of "columnar" organization is not a particular feature of the Field L, but a general characteristic of the whole sensorial colopallium. To explore this possibility, we studied the organization of the visual DVR of birds, in particular the anatomical relationships between the visual nidopallium (including the main region known as Entopallium) and the dorsally adjacent mesopallial region. Additionally, we studied the organization of the visual (and multi-sensory) collothalamic afferents to the nidopallium. This allow us to visualize how it is organized the visual DVR of birds, in relation to its two main sources of afferents, the collothalamic and mesopallial projections.

Methodologically we develop a system of "in vitro" chicken brain slices, which allowed us to perform small injections of high sensitivity tracers into several regions of both, the nidopallium and the adjacent mesopallium. We complement these studies with "in vivo" injections of anterograde and retrograde tracers into the nidopallium and sensory collothamus (Rotundus and DLP nuclei).

Our results show the existence of system of reciprocal projections between the nidopallial colloreipients (visual and somatosensory) areas and its corresponding mesopallial regions. These projections form discrete radially oriented axonal columns that span throughout the colopallium and follow a topographic arrangement in both rostral-caudal and medial-lateral dimensions. Furthermore, we confirmed that the rotundal projections end in a stratified manner in at least in three different levels inside the visual nidopallium (including the entopallium). This pattern of termination is similar to the one exhibited by the auditive afferents (from the nucleus Ovoidalis) into the Field

L. These similarities allow us to suggest the existence of a common cytoarchitectonic pattern in all regions of the sensory DVR.

From a comparative viewpoint, our results suggest a significant degree of similarity between the neuroanatomical organization of the sensory DVR of birds and the cytoarchitectonic arrangement of the sensory neocortex of mammals. To establish whether this similarity reveals an ancestral connectivity pattern or it is the result of a structural convergence, further evidence will be needed, mainly from other groups of amniotes such as reptiles.

Finally, we think that this research provides the basis for more comprehensive comparative studies of the evolutive history and functional organization of the pallium in amniotes. As a next step, our results invite to investigate physiologically the functional meaning of this "columnar" organization of the avian sensorial DVR.

Introducción

1. Vías sensoriales en amniotas:

En amniotas las proyecciones sensoriales se organizan en dos sistemas principales. El primero de estos, conocido como la vía Lemnotalamica, se organiza a partir de aferencias que, desde la periferia sensorial, alcanzan núcleos específicos del tálamo dorsal. A su vez, cada uno de estos núcleos “lemnotalamicos” proyecta topográficamente a un sector discreto de la región más rostral y dorsal del telencéfalo, conocida como Palió. En el segundo sistema en cambio, conocido como la vía Colotalámica, la proyección desde cada superficie sensorial al tálamo no es directa, existiendo un relevo sináptico adicional a nivel mesencefálico (tectum o colículo). De manera que, distintos grupos de neuronas mesencefálicas (dependiendo de cada modalidad sensorial) proyectan sobre núcleos específicos del tálamo dorsal (colotálamo), los cuales a su vez son el origen de las aferencias sensoriales que alcanzan regiones telencefálicas específicas (y que ocupan sectores paliales distintos a aquellos que reciben aferencias lemnotalamicas) (Nieuwenhuys et al. 1998; Hodos y Butler, 2005). En resumen, es posible señalar que una condición ancestral del telencéfalo de amniotas es la presencia de sectores paliales que reciben, de manera topográfica, proyecciones talamicas (cólicas y lemniscales) en sus distintas modalidades sensoriales (Figuras 1 y 2). Esto, que aparece como una característica conservada a través de amniotas, contrasta con las diferencias morfológicas que se hacen evidentes al comparar el blanco palial del sistema colotalámico de sauropsidos (DVR) con el de mamíferos (neocorteza).

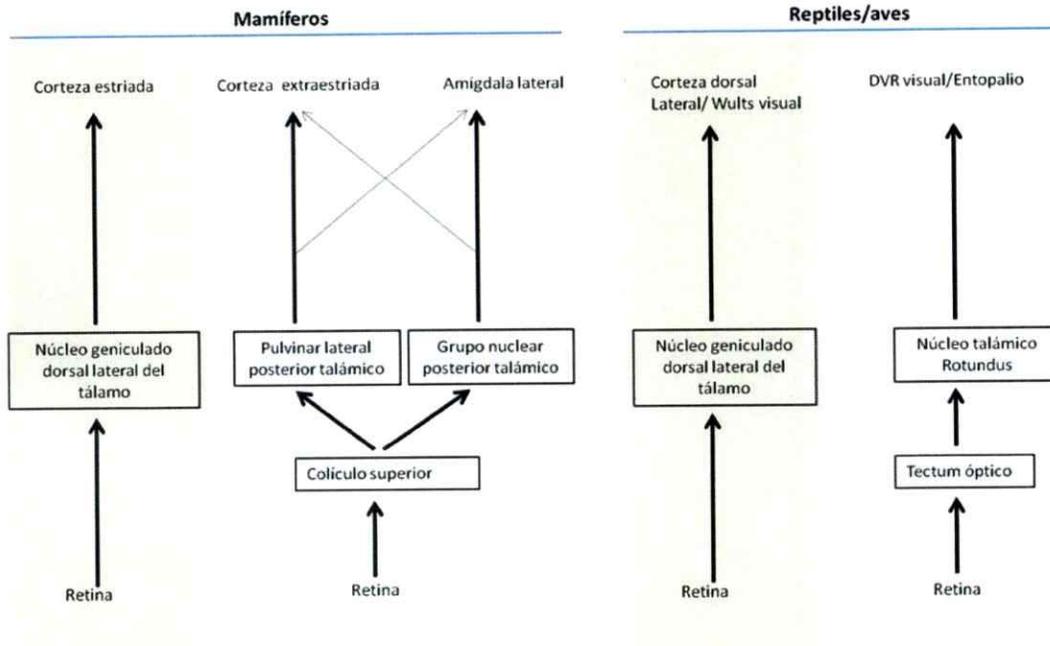


Figura 1

Esquema de las vías visuales en amniotas: En mamíferos y reptiles existen dos tipos de proyecciones visuales principales, las vías Lemnotalámica (en gris) y Colotalámica. Ambos sistemas, organizados a partir de distintas poblaciones de células retinianas, siguen rutas paralelas hasta alcanzar regiones específicas del palio. Actualmente, no se discute la homología entre aquellos sectores del palio medial (wulst en aves y neocorteza estriada en mamíferos) recipientes de las aferencias visuales lemnotalámicas. Por otro lado, la región palial colorecpiente en aves (DVR) ha sido comparada con parte de la corteza visual extraestriada de mamíferos. Sin embargo su identidad sigue siendo un tema de debate (Modificado desde Hodós y Butler 2005.ed)

Entonces, ¿qué tipo de organización colopial exhibiría el amniota ancestral? Una gran cantidad de estudios neuroanatómicos, fisiológicos y embriológicos se han dedicado a dilucidar la organización general y específica del palio sensorial en amniotas (Mountcastle et al., 1955/1957; Karten, 1969; Hubel y Wiesel, 1969; Ogren y Hendrickson, 1977; Benowitz y Karten, 1976; Northcutt 1981; Striedter, 1997; Medina y Reiner, 2000; Molnár y Butler, 2002; Butler y Molnár, 2002; Aboitiz et al., 2003; Krutzfeld y Wild, 2005; Bagnoli y Burkhalter, 1983; Nieuwenhuys et al., 1998; Hodos y Butler, 2005; Rakic, 2009; Butler et al., 2011; Krutzfeld y Wild 2011). A continuación describiremos parte de estos antecedentes, resaltando las similitudes y diferencias de la región palial a través de los distintos grupos de amniotas.

2. Palio en amniotas: Divergencias y conservación.

La región conocida como Palio (del latín “manto”) corresponde al sector más dorsal del telencéfalo de vertebrados (figura 3). En el caso de amniotas, y específicamente en mamíferos, el palio o corteza cerebral es una estructura que destaca anatómicamente por la presencia de “láminas” y “columnas”. Aquí, la organización de sus elementos celulares y sistemas de proyección (aférentes y eférentes) forman un fino arreglo citoarquitectónico de circuitos intra e interlaminares. Este “modelo cortical” es común tanto a la región cortical (tres laminas) como neocortical (seis laminas).

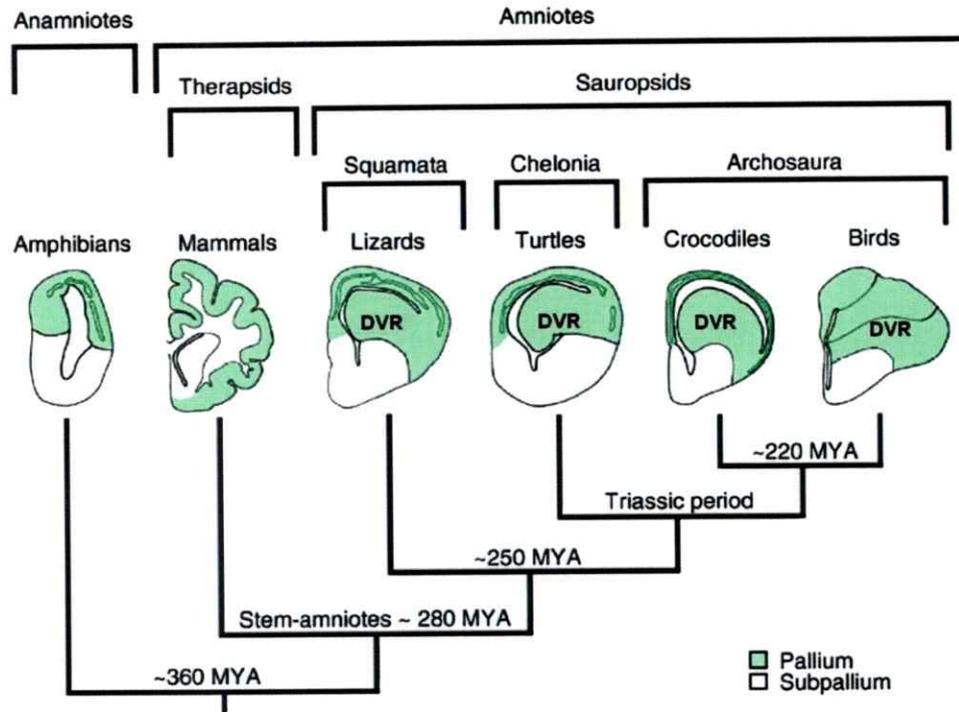


Figura 3

Evolución del palio en tetrápodos: Visión moderna y simplificada de la evolución de tetrápodos y la morfología general del palio en los representantes actuales de este grupo de vertebrados. Como es sugerido el tetrápodo ancestral dio origen al linaje los anfibios y amniotas. A su vez, a partir del amniota ancestral surgen al menos dos grupos distintos: El linaje de los sinapsidos que dio origen a los mamíferos y el linaje diapsido (sauropsidos) desde el cual derivan las aves y reptiles modernos. Dentro de los sauropsidos, aves y cocodrilos forman el grupo arcosaurio que junto con tortugas constituye uno de los mayores clados, mientras que lagartijas y serpientes (no mostrado) forman el segundo clado principal. MYA: millones de años atrás. Los ejemplos presentados aquí, representan una vista coronal del hemisferio cerebral derecho de cada tipo de tetrápodo. Note que la región palial(verde) de mamíferos exhibe (en este caso) pliegues y es delgada a diferencia de aquella en sauropsidos, caracterizada por su organización nuclear y gruesa. (Figura adaptada desde Aboitiz et al. 2003)

Mientras que las capas paliales se orientan de manera horizontal a la superficie ventricular, las columnas corticales lo hacen de manera perpendicular a esta (Lund et al., 1981; Lund, 1988; Chalupa y Werner, 2004; Rakic, 2009). Cada columna cortical correspondería a un arreglo de neuronas de proyección e interneuronas que, sosteniendo proyecciones recíprocas, seguirían una orientación vertical a la superficie cerebral (Lund et al., 1993; Rakic, 2009).

A pesar de que la organización columnar ha sido propuesta como principio estructural fundamental de las operaciones sensoriales y aún cognitivas de mamíferos (Mountcastle, 1997), los antecedentes anatómicos no permiten definir un patrón de organización columnar específico y común entre las distintas especies de mamíferos. Aún más, la organización citoarquitectónica de la corteza cerebral puede variar ampliamente a través de las diferentes áreas corticales de un mismo individuo (da Costa y Martin, 2010)

Por otro lado, si se observa la organización morfológica del palio de sauropsidos, es posible distinguir aquí la presencia de dos sectores principales. La región dorsal y medial palial, conocida como corteza dorsal (Hiperpalio o Wulvs en aves), exhibe una morfología equivalente a la disposición "laminar" de la corteza mamiferiana (Striedter, 1997; Medina y Reiner, 2000). El sector palial más lateral en cambio, conocido como DVR (*dorsal ventricular ridge*), se organiza a partir de núcleos conectados diferencialmente. Esto da origen a los distintos tipos de circuitos intrapaliales en este grupo de amniotas (Figura 4).

En aves (y posiblemente en sauropsidos) el hiperpalio (corteza dorsal-medial) contiene áreas recipientes de las proyecciones lemnotalámicas somáticas y visuales, de manera equivalente a lo ocurre en parte de la neocorteza de mamíferos.

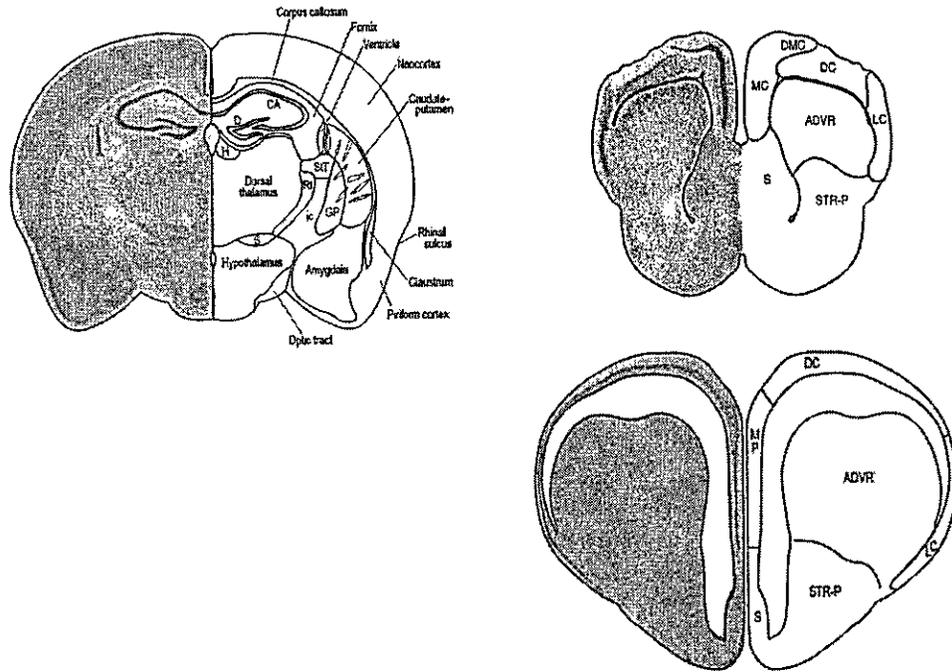


Figura 4

Palio en amniotas: En (a) se muestra una diagrama coronal del telencéfalo de un mamífero (ardilla), cuya región palial se caracteriza por poseer una organización laminar y columnar, principalmente de la región neocortical. A la izquierda se muestra una vista coronal del telencéfalo de un Geko (b) y un caimán (c), ambos representantes de sauropsidos. En este grupo de amniotas (que incluye a las aves) la región del DVR (ADVR) ocupa la mayor parte del palio, siendo su organización citoarquitectónica de tipo nuclear. Solamente el sector dorso-medial ha sido comparada morfológica y funcionalmente con parte de la neocorteza de mamíferos. Note que en el caso del palio de geko, los cuerpos neuronales (mas opacos) están agrupados próximos a la superficie ventricular (proliferativa), como resultado de un menor grado de migración durante el desarrollo de esta región, lo cual da origen a un tipo de palio menos elaborado (Tipo I), en comparación con el palio de caimán (Tipo II, con mayor migración desde superficies ventricular). MC: medial cortex; DC: dorsal cortex; LC: lateral cortex; S: septum; STR: estriado. Figura modificada desde Hodós y Butler, 2005.

De manera relativamente reciente, se ha establecido la coincidencia en el modo de expresión de un conjunto de genes homeobox durante el desarrollo temprano del telencéfalo de aves, mamíferos y reptiles, incluyendo la región dorsal del palio (Figura 5; Medina y Reiner, 2000). Es decir, la identificación inequívoca de un “lemnoplio” en amniotas, sumado a las similitudes estructurales en los estadios de desarrollo palial temprano, apoyan la hipótesis respecto de la homología entre parte de la neocorteza de mamíferos y el sector dorso-medial del palio de saurosidios.

En el caso del DVR, las descripciones anatómicas clásicas (previo al uso de trazadores neuronales de alta sensibilidad y herramientas de biología molecular) sugirieron que esta región palial correspondería a parte del cuerpo Estriado (Wild, 1987). Posteriormente, se descubrió (en aves) que la presencia de terminales colinérgicos y dopaminérgicos está restringida, al igual que en mamíferos, al sector ventral del telencéfalo (estriado), sin incluir el DVR. Lo anterior, sumado a estudios de conectividad general que describieron la organización sensorial del DVR, obligó a reevaluar y finalmente identificar el DVR como un componente palial del telencéfalo (Jarvis et al., 2005). Además, en un primer momento el DVR fue descrito como una zona de organización nuclear, con escasa o nula presencia de circuitos recurrentes, comparado con lo que se conocía respecto de la citoarquitectura cortical de mamíferos (Jarvis et al., 2005).

La visión actual sostiene que el DVR (visto principalmente en aves) está formado por una región interna, conocida como Nidopalio, más una zona externa o dorsal, llamada Mesopalio. La primera de estas regiones contiene centros recipientes primarios de las proyecciones cólicas auditivas, visuales y polisensoriales (Figura 6).

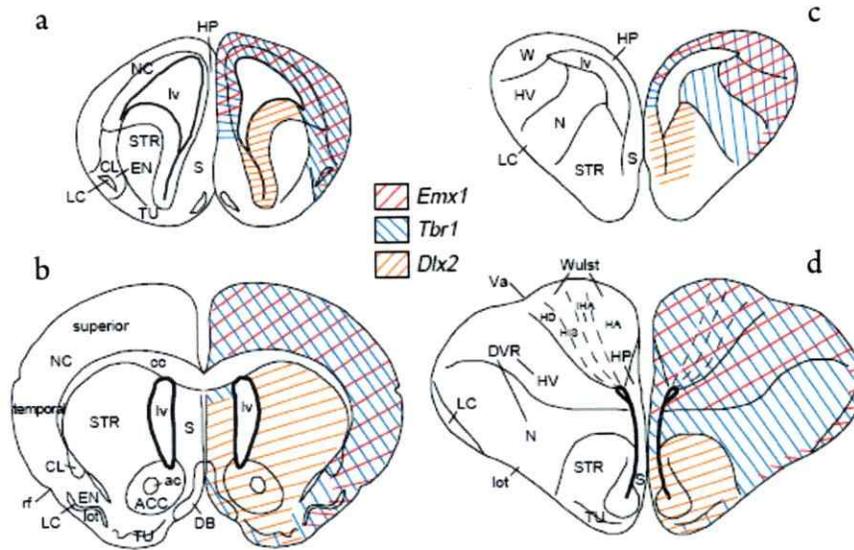


Figura 5

Patrón de expresión de genes homeóticos en el telencéfalo de mamíferos y aves: El telencéfalo de rata (a) y pollo (c) en estados embrionarios representativos (E17 y E20 respectivamente) exhiben un patrón de expresión de los genes homeóticos (*Emx1*, *Tbr1* y *Dlx2*) similar. En cada caso, se muestra un esquema (izquierda) de los territorios presuntivos que darán origen a distintos sectores del telencéfalo adulto (abajo, b y d). Note que los territorios paliales se caracterizan por la expresión de *Emx1* y/o *Tbr1*, mientras que la región subpalia expresa exclusivamente *Dlx2*. Aun cuando *Emx1* no se expresa en todos los dominios paliales, si es posible encontrarlo en la formación hipocampal, neocorteza, corteza lateral y claustró, en roedores. En aves, *Emx1* se expresa en el complejo hipocampal, el wulst, la región cortical lateral y el sector superior del DVR (hiperpalio en aves). (Figura modifica de Medina y Reiner, 2002). HP: complejo hipocampal; NC: neocorteza; cc: cuerpo calloso; STR: estriado; CL: Claustró; EN: núcleo endopiriforme; LC: corteza lateral; W: wulst; DVR: *dorsal ventricular ridge*; Va: vaculla; GP Globus pallidus; HA hyperstriatum accessorium; HD hyperstriatum dorsale; HIS: hyperstriatum intercalatus superior; HV: Hyperstriatum ventrale.

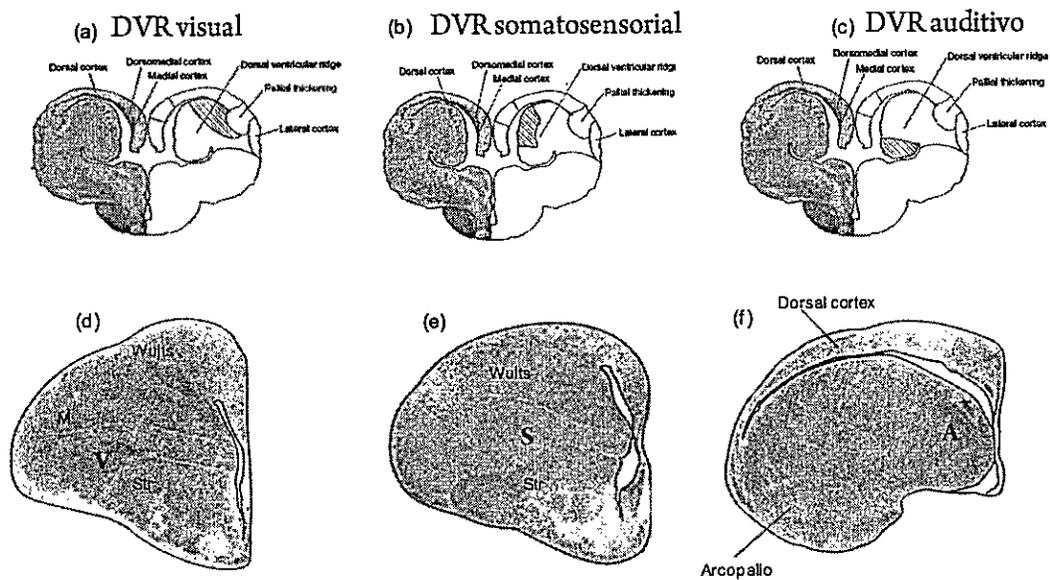


Figura 6

Organización del DVR: Arriba (a - c) se muestra una serie rostro-caudal del telencéfalo de tortuga. Como se indica en cada caso (hemisferios derechos) existen, dentro del DVR, sectores específicos que actúan como recipientes primarios de los distintos tipos de proyecciones colotalámicas (visual, somática y auditiva). Abajo (d - f) se muestra una serie rostro-caudal de telencéfalo de paloma y se indica el sector del nidopallio (DVR), dedicado a cada modalidad sensorial. La región visual del DVR (V) está localizada en DVR anterior, mientras que la región auditiva (A) es la más caudal y medial. El componente somatosensorial (S) se ubica en una posición intermedia entre lo visual y auditivo. Wulst: sector dorso-medial de palio; M: mesopallio. Figura modificada desde Hodós y Butler, 2005.

La reevaluación de la organización citoarquitectónica del DVR ha sido parte del desarrollo de una visión moderna de la evolución del telencéfalo en amniotas (Jarvis, 1991). En este sentido es significativo lo descrito recientemente por Wang et al. (2010) referente al DVR auditivo de aves. En este trabajo se muestra que esta región colo-palial exhibe un tipo de arreglo neuroanatómico comparable al arreglo columnar y laminar de la neocorteza auditiva de mamíferos. Desde una óptica comparada, este antecedente se suma al grupo de trabajos que apoyan la hipótesis según la cual, existiría un patrón de conectividad palial ancestral en el telencéfalo de aves, mamíferos y reptiles (Karten, 1969; Medina y Reiner, 2000; Krutzfeld y Wild, 2005; Jarvis et al., 2005; Fredes et al., 2010; Baldwin et al., 2011).

Siguiendo la línea de los antecedentes expuestos, nuestro objetivo ha sido investigar la organización citoarquitectónica del DVR visual de aves. Esto nos permitirá comparar esta región con el resto del DVR sensorial y por extensión, con aquellas zonas colorecipientes paliales de mamíferos.

A continuación, describiremos las características neuroanatómicas específicas del sistema colotalámico en amniotas, lo cual constituirá el marco teórico a partir del cual formularemos la hipótesis de nuestro trabajo.

3. Antecedentes del sistema colotalámico visual en amniotas:

3.1a. Proyección colotalámica visual en sauropsidos:

En sauropsidos (aves y reptiles) el circuito visual de mayor desarrollo es el sistema colotalámico o tectofugal. Esta vía sensorial se organiza a partir de los axones retinianos que alcanzan las capas superficiales del tectum óptico (colículo superior en mamíferos) (Benowitz y Karten, 1976; Frost y col., 1990; Mpodozis y col., 1995,1996; Shimizu y Bowers, 1999; Hellmann y Gunturkun, 2001; Guirado et al.,

2005) (Figura 7). El tectum óptico forma parte del mesencéfalo y, en aves, está compuesto por aproximadamente catorce capas o laminaş citoarquitectónicamente distintas (Lukcsh, 2003). Las células que forman la capa 13 (conocida como *stratum griseum centrale*, SGC) reciben el grueso de las aferencias retinianas y son el origen de un sistema de proyecciones bilaterales que terminan dentro del núcleo colotalámico Rotundus (Rt) (Marín et. al, 2003). Estas células, conocidas como “*tectal ganglion cells*” (TGCs), se caracterizan por poseer un árbol dendrítico de gran extensión (que puede llegar a cubrir un área circular de hasta 3 mm de diámetro respecto de la superficie tectal) y exhiben finas especializaciones dendríticas, denominadas como “*bottle-brush*”, distribuidas en láminas retinorecipientes específicas (Mpodozis et al., 1996; Luksch et al., 1998). Además, se ha descrito que la proyección desde la capa 13 tectal al núcleo rotundus seguiría un ordenamiento no topográfico. Más específicamente, grupos de células tectales distribuidos a través de toda la extensión de la capa 13, aferentarían locus puntuales o acotados dentro de cada subdivisión rotundal (Marín et al., 2003). Las subdivisiones rotundales aludidas son cuatro y, segregadas rostro-caudalmente, corresponden a Dorsal anterior (Da), Centralis (Ce), Posterior (Post) y Triangularis (Tr) (Figura 8).

Los axones de las células rotundales, formando parte del *fascículo proscencefalicus lateralis* (FPL), terminan dentro de un sector del nidopallio anterior (DVR anterior) conocido como Entopallio (E) (Karten y Hodos, 1970; Benowitz y Karten, 1976; Fredes et al., 2010) (Figura 9).

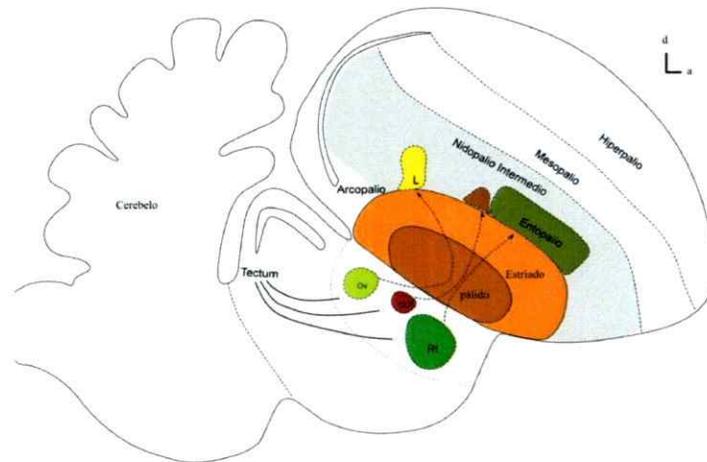


Figura 7

Proyecciones colotalámicas en aves: Esquema sagital de cerebro indicando la organización general del sistema colotalámico. Distintos grupos de neuronas mesencefálicas (Tectum) proyectan a núcleos puntuales del colotálamo sensorial (auditivo OV, visual Rt y multisensorial DLP). A su vez, cada uno de estos núcleos envía aferencias hacia un sector específico dentro del nidopalo (indicado como una gran banda gris). Estos centros colorecipientes son conocidos como Field L ("L") y Entopalo, para la modalidad auditiva y visual, respectivamente. Note la topografía rostro-caudal de esta proyección. La región nidopalial recipiente de DLP es menos conocida en cuanto a sus límites y organización citoarquitectónica.



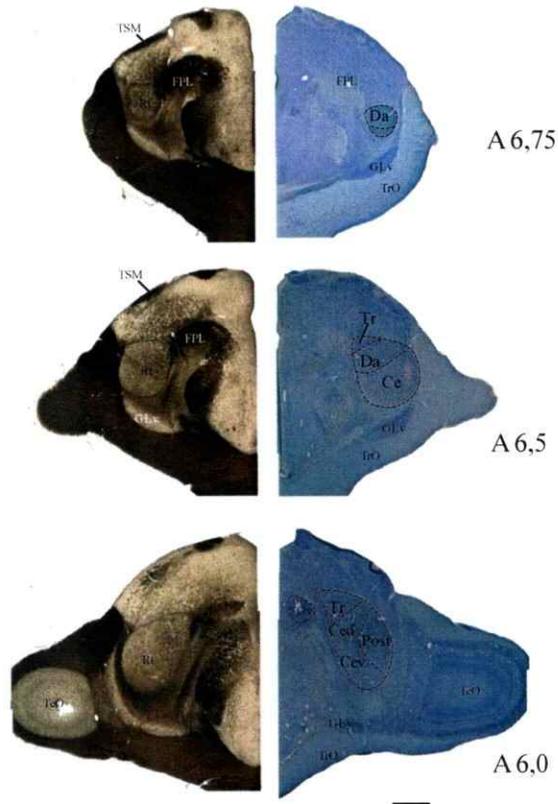


Figura 8

Subdivisiones del núcleo rotundus: Serie rostro-caudal (A 6,75 – A 6,0) de secciones coronales del cerebro de paloma adulta. En cada nivel, se presenta una preparación fresca (izquierda, campo claro) y una preparación tratada con tinción de Nissl, indicando los componentes del tálamo y mesencéfalo. Note que el rotundus (Rt) es el núcleo sensorial (visual) de mayor desarrollo en aves. FPL corresponde al tracto formado por axones rotundales que comunica este núcleo colotalámico con el entopallio (nidopallio visual).

El rotundus está formado por cuatro regiones principales: **Da**, subdivisión dorsal anterior; **Ce**, subdivisión centralis; **Tr**, subdivisión triangularis; **Post**: subdivisión posterior.

Ced, sector dorsal de la subdivisión centralis; Cev, sector ventral de la subdivisión centralis; GLv, núcleo geniculado lateral-ventral; TSM: tracto septo-mesencefálico; TrO, tracto óptico; TeO, tectum óptico; Ov, núcleo ovoidalis; FPL, *fascículo proscencefalicus lateralis* (proyección rotundus-entopallio). Barra de calibración: 1mm.

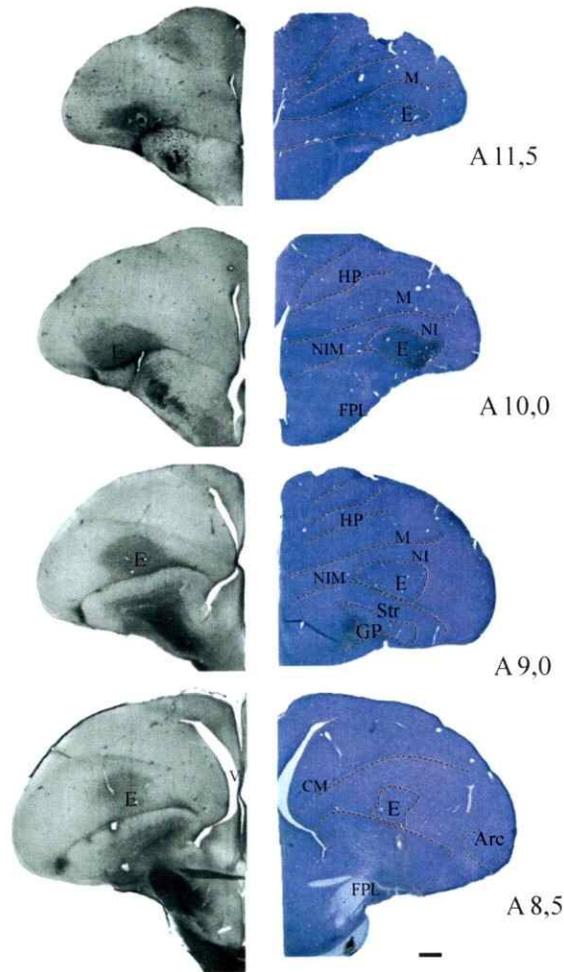


Figura 9

Organización rostro-caudal del Entopallio: Serie rostro-caudal (A 11,5 – A 8,5) de telencéfalo de paloma adulta. En cada nivel, se muestra una vista en campo claro (izquierda) mas una hemisección tratada con tinción de Nissl (derecha). El entopallio, en secciones montadas en agua, es distinguible a partir de su opacidad diferencial, relacionada con el enriquecimiento de este núcleo de fibras mielínicas. Además se indican otras regiones paliales y subpaliales. CM, mesopallio caudal; HP, hiperpallio; NI, nidopallio intermedio; NIM, nidopallio intermedio medial; M, mesopallio; Str, estriado; GP, globus pallidus; Arc, arcopallio; FPL: *fascículo proscencefalicus lateralis* (proyección rotundus-entopallio). Barra de calibración: 1mm.

3.1b. ¿Una segunda vía colofugal visual en aves?

De manera adicional a la proyección rotundus-entopallio, Gamlin y Cohen (1986) describieron en palomas la existencia de una vía visual accesoria, que involucraría a un núcleo talámico cercano al rotundus, conocido como DLP (por dorsal lateral posterior). Esta vía se organizaría a partir de un grupo de células distribuidas en distintas capas del tectum óptico (incluyendo un subconjunto de neuronas situadas en la capa 13) que proyectarían al núcleo DLP (Wild y et al., 1987). A su vez, DLP sería el origen de un sistema de proyecciones cuya región terminal se localizaría en un sector del nidopallio adyacente al entopallio, inmediatamente sobre la lamina que separa el pallio del estriado (lámina pallio-subpallial, LPS) (Figura 10). Posteriormente, Gunturkun y Kroner (1999) sugirieron algo distinto, señalando que la localización de la región terminal de DLP correspondería más bien a una posición dorsal respecto de la región descrita el año 1986 por Gamlin y Cohen. En resumen, aún no es clara la extensión de la región terminal de DLP a nivel nidopallial.

Por otro lado, existen antecedentes funcionales que describen respuestas neuronales multisensoriales (células bimodales visual-auditiva o visual-somática) en DLP, lo que sugiere la existencia de más de una fuente de aferencias para este núcleo (Korzeniewska, 1987; Korzeniewska y Gunturkun 1990). En este sentido, se ha sugerido que DLP (específicamente la región caudal de este núcleo) sería parte del sistema somatosensorial colotalámico, recibiendo proyecciones desde grupos de células tectales que a su vez, serían el relevo mesencefálico de aferencias somáticas desde los núcleos de la columna dorsal (Hodos y Butler, 2005). En síntesis, los antecedentes respecto de la proyección de DLP al nidopallio, aunque incompletos,

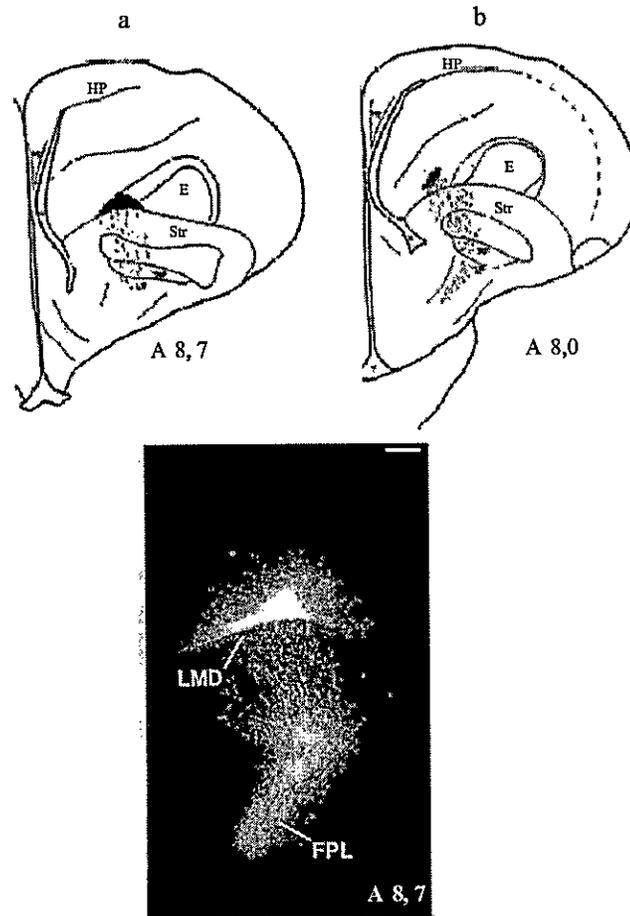


Figura 10

Región terminal nidopial de DLP: Inicialmente Kitt y Brauth (1982) y posteriormente Gamlin y Cohen (1986) mostraron que DLP proyecta a una zona adyacente al entopalio (a y b), sobre la lámina palio-subpalial (ex lamina medularis dorsal, LMD). En (c) se muestra una imagen de auto-radiografía (campo oscuro) con el resultado de una inyección de aminoácido radiactivo (tritiado) centrada en la región caudal de DLP. El patrón de marca anterogrado, que incluye FPL, muestra la zona terminal nidopial medial y ventral, descrita como recipiente de las proyecciones desde DLP. FPL, fascículo prosencefálico lateral. Barra calibración en (c): 500 micrones. Figura modificada de Gamlin y Cohen (1986), *Journal of comparative neurology*, 250.

sugieren la existencia de dos zonas terminales, segregadas dorso-ventralmente y situadas en una posición adyacente al entopalio. Es posible sugerir que la cercanía de esta zona terminal con el entopalio (o nidopalio rotundus recipiente) obedezca a la proximidad entre DLP y el núcleo rotundus.

Volviendo a la descripción de la proyección colotalámica en amniotas no mamíferos, en reptiles se ha descrito algo similar al caso de aves. Aquí podemos observar que nuevamente, es el núcleo rotundus el principal centro talámico visual tectorecipiente (Northcutt y Butler, 1974; Belekhoval et al., 2000; Guirado et al., 2000). A nivel celular se ha descrito que las células tectales que proyectan al rotundus de reptiles son morfológica y hodológicamente equivalentes a aquellas descritas en la capa trece del tectum de aves (Martínez-Marcos et al., 1997; Dávila et al., 2002). Respecto de la proyección colopalial, se ha descrito en lagartijas, que el núcleo rotundus envía aferencias que alcanzan una región equivalente al entopalio, localizada en el DVR anterior (Guirado et al., 2000). Además, en el DVR anterior de iguanas, se ha mostrado la presencia de una región con propiedades visuales, que sería equivalente al sector que recibe aferencias rotundales en otros reptiles (Manger et al., 2002).

En resumen y de acuerdo a los antecedentes expuestos, es posible sugerir la existencia (conservación) de una proyección visual tectum-rotundus-DVR anterior, en sauropsidos.

3.1c. Coloplio visual en sauropsidos:

Como fue mencionado, el DVR anterior de reptiles contiene una región específica recipiente de la proyección colotalámica visual. Más específicamente, se ha descrito que las aferencias desde el núcleo rotundus terminarían en dos niveles segregados ventro-dorsalmente, dentro del DVR visual (Guirado et al. 2000; Hodos y Butler 2005). Este antecedente ha recibido respaldo fisiológico, puesto que se han registrado respuestas visuales multiunitarias en el DVR visual de iguanas, distribuidas a través del eje dorso-ventral del palio (Manger et al. 2002). Es decir, los antecedentes anatómicos respecto del DVR visual de reptiles, aunque incompletos, hacen posible suponer la existencia de una organización funcional segregada dorso-ventralmente a través de esta región sensorial visual de reptiles.

En aves, la región palial colorecpiente visual (equivalente a la región descrita mas arriba en reptiles) corresponde al núcleo nidopialial conocido como Entoplio (E). Las primeras caracterizaciones de este colo-núcleo sugirieron que estaría organizado a partir de dos regiones principales; una región central (*core*), ubicada inmediatamente dorsal a la *lamina medularis*, cubierta por una zona más periférica o manto (*belt*; Karten y Hodos 1967). La región central fue caracterizada por la presencia de un masivo sistema de axones mielínicos de origen rotundal. A su vez, la región periférica fue definida por la presencia de fibras más delgadas, la cuales fueron consideradas como parte de una proyección minoritaria desde el núcleo rotundus (Karten & Hodos, 1970).

A partir de criterios inmunohistoquímicos y de conectividad intratelencefálica, se ha descrito con mayor precisión la organización de E. Considerando el patrón terminal de los axones rotundales, se ha establecido que E contendría al menos dos zonas

rotundus-recipiente: Una zona interna (Ei), una región externa (Ex) más dorsal (Krutzfeld y Wild 2004, 2005). Además, antecedentes incompletos sugieren que las fibras rotundales se distribuyen en más de un nivel dentro de E, invadiendo incluso el nidopalio adyacente, conocido como Nidopalio intermedio (NI) (Alpar y Tombol, 2000; Krutzfeld y Wild 2005; Husband y Shimizu, 1999).

Respecto de la conectividad intratelencefálica, la región periférica a E (que incluye parte del NI) es la fuente de aferencias hacia el nidopalio frontal lateral (NFL), el nidopalio intermedio lateral (NIL), el área temporo-parieto occipital (TPO) y el arcopalio (Husband y Shimizu 1999; Krutzfeld y Wild, 2005).

Por otro lado se ha descrito la existencia de un sistema de proyecciones recíprocas entre E y una región puntual localizada dentro del Mesopalio ventral y lateral (MVL) (Alpár y Tombol, 2000; Krutzfeld y Wild, 2005).

Confirmar la presencia de una zona terminal adicional (dentro del NI) para los axones rotundales y describir la organización de la microcircuitura asociada al sistema E/MVL ha sido uno de los objetivos principales de esta tesis.

3.1d. Colopalio (Nidopalio) recipiente de la proyección desde DLP:

Los antecedentes anatómicos respecto de la región del DVR (nidopalio intermedio y medial) recipiente de la proyección desde DLP y el Mesopalio adyacente, son escasos e incompletos. Sin embargo, la cercanía de esta zona con el entopalio y el hecho de que pueda corresponder a un circuito colofugal, nos permite sugerir una posible similitud de esta proyección con el circuito rotundus-entopalio-mesopalio. ¿Es la organización de este sistema, comparable a la proyección rotundus-entopalial?

3.2a. Proyección colotalámica visual en mamíferos:

En mamíferos, los antecedentes anatómicos sugieren que la proyección desde las capas superficiales del Colículo (el equivalente memiferiano del tectum óptico de sauropsidos) a una parte del núcleo pulvinar, es equivalente a la proyección tecto-rotundal de aves y reptiles (Nieuwenhuys, 1998; Hodos y Butler, 2005). Se ha determinado que las neuronas coliculares que proyectan al pulvinar de ardillas, exhiben una morfología idéntica a aquellas localizadas en la capa trece del tectum de aves (TGCs) incluyendo en mismo tipo de especializaciones dendríticas (Major et al. 2000). Según lo anterior, la conservación de la organización general y de un tipo específico de morfología celular son argumentos que apoyan la homología entre las proyecciones retina-tectum-rotundus y retina -colículo-pulvinar, de sauropsidos y mamíferos respectivamente.

De manera reciente, Baldwin y cols. (2011) han descrito la organización del complejo pulvinar de ardillas a partir de la expresión de marcadores moleculares y el patrón de aferencias coliculares. En éste trabajo, se describe la existencia de cuatro subdivisiones pulvinares, de las cuales tres recibirían proyecciones desde el colículo superior. De forma complementaria Fredes y cols. (2011) han descrito la organización de la proyección colículo-pulvinar en ardilla, confirmando que la región caudal del pulvinar recibe una proyección bilateral de una población de células coliculares específica, equivalente a las TGCs de aves. La región rostral del pulvinar en cambio, recibiría una proyección ipsilateral desde un grupo de células localizadas en una capa colicular más profunda, correspondiente al *Stratum Optico*.

3.2b. Colopallio visual en mamíferos:

En mamíferos el colopallio es parte de la región neocortical, la cual se expande a través del sector dorso-medial y lateral del pallio. La neocorteza está formada por seis láminas, cada una de las cuales ha sido caracterizada según criterios morfológicos, bioquímicos y de conectividad (Nieuwenhuys, 1998; Krubitzer y Kaas 2005). Brevemente, la capa IV corresponde a aquella lámina que recibe el grueso de las aferencias sensoriales talámicas (en este caso pulvinares). Por otro lado las capas II y III dan origen a circuitos cortico-corticales, mientras que la capa V proyecta al estriado, al tronco encefálico y la medula espinal. La capa VI (y en algunos casos la capa V) da origen a proyecciones cortico-talámicas (Gilbert y Kelly, 1975; Jones y Wise 1977; Nieuwenhuys et al., 1998). A nivel celular, la neocorteza esta constituida por una colección de tipos celulares, entre los cuales destacan neuronas estelares, granulares y piramidales. Estas últimas, poseen un árbol dendrítico apical extendido periféricamente que alcanza las capas más superficiales. El axón principal de cada célula piramidal (y frecuentemente las colaterales de este) tienen una orientación radial, lo cual contribuye a la formación de cada modulo columnar cortical. Sin embargo, éste patrón morfológico exhibe múltiples variaciones, incluso entre áreas corticales cercanas de un mismo individuo (Da Costa y Martin, 2010).

En el caso de la proyección colotalámica visual al pallio, inyecciones de trazadores anterogrados muestran que la región caudal del pulvinar de ardillas proyecta principalmente a la capa cuatro de la región parietal de la neocorteza temporal (extraestriada). Además, los axones pulvinares se distribuyen desde el borde dorsal al límite ventral de esta capa (Fredes y cols.2011). Las capas cinco y seis son las

responsables de establecer la conectividad recíproca entre esta región cortical y el pulvinar. Por otro lado, la región rostral del pulvinar proyectaría a la región medial de la neocorteza temporal.

4. Antecedentes del sistema colotalámico auditivo en amniotas:

4.1a. Proyección colotalámica auditiva en sauropsidos:

Tanto en reptiles como aves la organización del sistema auditivo sigue un patrón común desde los núcleos cocleares hasta el telencéfalo. En aves, los núcleos auditivos del cerebro posterior proyectan contralateralmente sobre el núcleo mesencefálico *lateralis pars dorsalis* (MLd), descrito como un componente del *torus semicircularis*. A su vez MLd proyecta ipsilateralmente sobre el núcleo *ovoidalis* (Ov), localizado en el colotalamo medial (Karten, 1967; Wild, 1997). En reptiles la región mesencefálica equivalente a MLd proyecta a un núcleo colotalámico considerado homólogo a *ovoidalis*, conocido en lagartijas y cocodrilos/tortugas como núcleo *medialis* o *reuniens pars compacta*, respectivamente (Karten, 1967; Hodos y Butler, 2005). Tanto en aves como en reptiles, el blanco de los axones colotalámicos auditivos es una región específica localizada en la zona caudo-medial del DVR (Karten, 1968; Dubbeldam, 1993; Manger et al., 2002; Hodos y Butler, 2005).

4.1b. Colopalio auditivo en sauropsidos:

En reptiles (iguana) se ha descrito que la región más medial y caudal del DVR es la región recipiente de las aferencias colotalámicas auditivas que tienen su origen en el núcleo *reuniens pars compacta* (Manger et al., 2002). Sin embargo, no existen mayores antecedentes de la organización citoarquitectónica fina del DVR auditivo.

En aves, la región nidopialial que recibe las proyecciones auditivas desde ovoidalis (Ov) es conocida como *Field L* (Karten, 1968). *Field L* es parte del nidopalio caudo-medial y está constituido por tres láminas o bandas paralelas, denominadas como L1, L2 y L3. Los axones y terminaciones sinápticas de Ov se distribuyen a través de estas capas, y lo hacen de manera principal pero no exclusiva sobre L2 (Fortune y Margoliash, 1992; Wild y col., 1993) (Figura 11). A su vez, L2 se conecta recíprocamente con la región del mesopalio caudal (CM), la cual puede ser descrita morfológicamente como una cuarta lámina de disposición paralela a *Field L*.

De manera reciente Wang et al. (2010) han descrito la organización del DVR auditivo de aves (*gallus gallus*), específicamente del complejo formado por *Field L* y el mesopalio caudo medial (CM). Brevemente, las células que forman parte de las distintas láminas de este complejo, orientan sus procesos de manera radial, generando un patrón de conectividad ordenado y de aspecto "columnar" (Figura 12). Además, las neuronas que reciben el grueso de la proyección colotalámica desde Ovoidalis (Ov) poseen una morfología de tipo granular, similar a las neuronas neocorticales colorecipientes. Este tipo de arreglo citoarquitectónico (láminas o bandas interconectadas por medio de elementos orientados de manera perpendicular a estas) ha sido relacionado con antecedentes que describen una organización tonotópica (isorepresentación de frecuencias) a través de la extensión longitudinal del complejo *Field L*/CM (Scheich, 1983; Fortune & Margoliash, 1992; Hodos y Butler 2005).

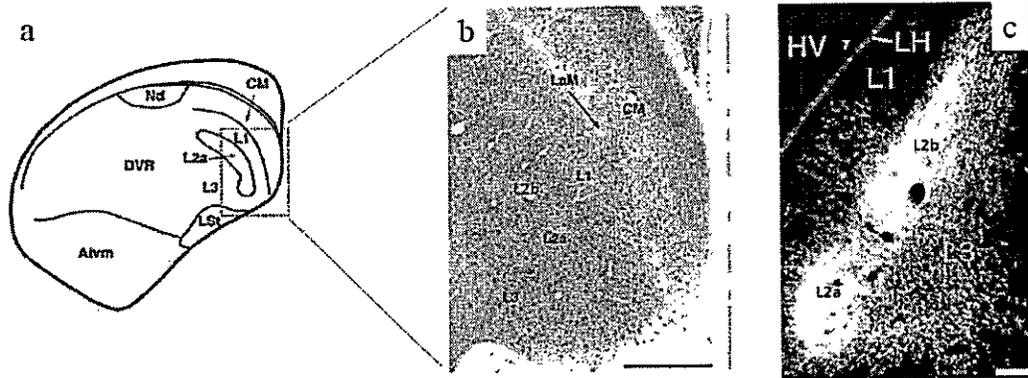


Figura 11

Organización anatómica y aferencias del complejo auditivo Field L. (a y b) indican la posición que ocupa el complejo Field L dentro del DVR posterior y los tres componentes principales (L1, L2 a /b y L3) dispuestos de manera laminar (modificadas desde Wang et al. 2010). (c) modificado desde Wild et al.1993, mostrando el resultado de una inyección de colerotoxina centrada en el núcleo Ovoidalis. Las fibras talámicas terminan principalmente en L2, e invaden en menor medida las laminas adyacentes. Nd: nidopallio dorsal; DVR: dorsal ventricular ridge; Aivm: Arcopallio intermedio ventromedialis; CM:caudal mesopallium, ex Hiperestriado ventral (HV en c); LaM lamina mesopallialis (ex lamina hipestriatalis en c). Barras de calibración en b y c : 500 y 200 micrones respectivamente.

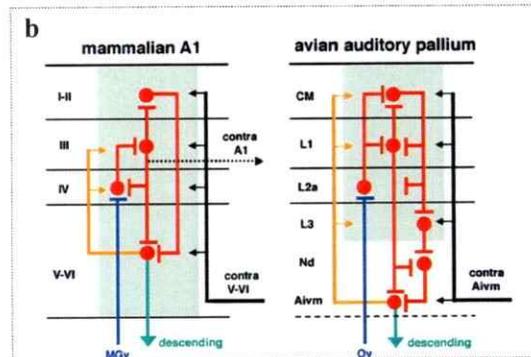
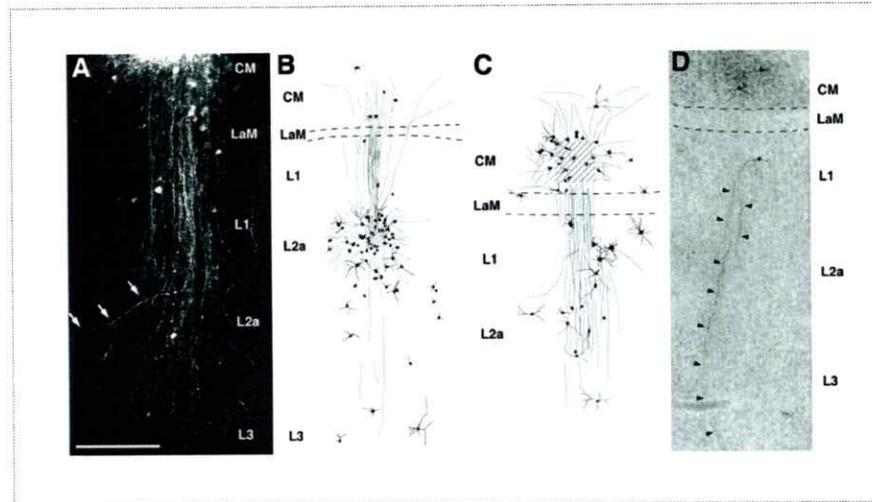


Figura 12

Organización “columnar” en el complejo Field L/CM en pollo. (A) visión de una proyección plana a partir de una serie confocal en el eje Z, luego de una inyección de BDA conjugado con rodamina en el mesopallio caudomedial (CM). Note que las células y axones marcados están confinados a una “columna” que se extiende a través de todas las “laminas” de Field L. las (B-D) microfotografías y reconstrucción en cámara lúcida de neuronas y fibras marcadas luego de una inyección de BDA/rodamina en L2a (B) y CM (C y D). Las áreas sombreadas indican el centro de cada inyección. Las líneas punteadas indican la posición de la lamina mesopallial (LaM). Cabezas de flecha en D indican la trayectoria de axones descendentes.

b. Figura tomada de Wang et al., 2010. Comparación de la organización columnar y laminar de la neocorteza auditiva primaria (A1) y el colopallio auditivo (Field L) de aves. Las líneas y flechas azules, rojas y verdes representan los *input* talámicos, conexiones intrínsecas y descendentes respectivamente. Las líneas naranjas representan conexiones recurrentes desde las capas más profundas a las más superficiales. Las líneas y flechas negras indican proyecciones reentrantes desde otras partes del cerebro. Nd: nidopallio dorsal; Aivm: Arcopallio intermedio ventromedial; CM: caudal mesopallio. Barra de calibración en a: 200 micrones.

4.2a. Proyección colotalámica auditiva en mamíferos:

En mamíferos se ha descrito una vía auditiva ascendente equivalente a aquella descrita en sauropsidos (Hodos y Butler, 2005; Figura 2). Este sistema de proyecciones se organiza a partir de los núcleos auditivos del cerebro posterior que proyectan sobre el núcleo central del colículo inferior (CI). A su vez esta región (considerado homólogo a MLd), envía eferencias hacia al núcleo geniculado medial (MG) del tálamo, que es el origen de un sistema de aferencias que alcanzan la corteza auditiva y el núcleo lateral de la amígdala palial (Doron y Ledoux, 1999; LeDoux et al., 1990). MG está formado por tres subdivisiones principales conocidas como “ventral”, “dorsal” y “magnocelular”. Es la subdivisión ventral del MG (MGv) quien proyecta a la corteza auditiva primaria (A1) (Huang y Winer, 2000). La posibilidad de que MGv sea homólogo del núcleo ovoidalis de aves, es un tema aún debatido y requiere implementar criterios comparativos adicionales.

4.2b. Colopalio auditivo mamíferos:

En mamíferos, las proyecciones auditivas desde el colículo inferior (equivalente al MLd de aves) terminan principalmente en las capas IV y I de la neocorteza auditiva primaria (A1). Funcionalmente, esta región neocortical contendría un mapa tonotopico completo organizado a partir de columnas asociadas a frecuencias específicas, distribuidas a través de toda la extensión de A1 (Hubel y Wiesel, 1962; Hodos y Butler, 2005). Es decir, cada modulo columnar radial tendría una preferencia por una determinada frecuencia acústica (Abeles y Goldstein, 1970). Esta propiedad fisiológica sería similar a lo descrito en el DVR auditivo de aves (Field L) (Hodos y Butler, 2005).

5. Hipótesis:

Consistencia a través de las regiones sensoriales del DVR:

Considerando como referencia directa los antecedentes respecto de la organización del DVR auditivo en aves, sugerimos que el DVR colorecpiente de aves se organiza en todas sus divisiones sensoriales a partir de un patrón citoarquitectónico común, Confirmar esta idea requiere examinar y verificar los siguientes aspectos citoarquitectónicos del nidopallio visual y multisensorial de aves:

- a. Tanto la región nidopallial recipiente de las aferencias rotundales (entopallio o nidopallio visual) como aquella zona recipiente de las proyecciones desde DLP, se encuentran recíprocamente conectadas, posiblemente de manera "columnar", con regiones mesopalliales discretas y adyacentes.
- b. El núcleo rotundus (visual) y posiblemente DLP (multisensorial), proyectan sobre dos zonas nidopalliales específicas, una principal y otra secundaria más dorsal. En el caso de la proyección rotundal la región terminal dorsal estaría localizada en el nidopallio intermedio.

6. Objetivos:

6.1. Objetivo general

Describir la organización citoarquitectónica del nidopalio en relación con sus dos fuentes de aferencias principales:

- a. Aferencias provenientes desde la región mesopallial adyacente.
- b. Aferencias sensoriales tálamicas.

6.2. Objetivos específicos

1. Realizar una descripción detallada de las relaciones de conectividad recíproca entre el Nidopalio y Mesopalio, para ambas proyecciones: visual (Entopalio/Mesopalio ventral lateral, MVL) y visual/multisensorial (región terminal de DLP/mesopalio adyacente).
2. Realizar una descripción morfológica de los principales tipos neuronales que participan del sistema Nidopalio/Mesopalio visual.
3. Determinar la existencia de una zona terminal localizada en el nidopalio intermedio, tanto para la proyección rotundal como para DLP.

7. Materiales y Métodos

Uso de animales: Los procedimientos descritos a continuación han sido aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

Durante la presente tesis, se utilizaron un total de 37 palomas (*Columba livia*) adultas y 45 pollos (*Gallus gallus*) de entre 1 y 7 días post-eclosión. Ambas muestras de ambos sexos. Las palomas fueron obtenidas desde un proveedor local y los pollos fueron donados por la avícola "Don Pollo Ltda."

Estos animales fueron mantenidos en el Bioterio del Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Ciencias, por un tiempo aproximado de dos semanas (palomas) y 5 días (pollos), bajo condiciones reguladas de luz, temperatura y comida: ciclo de luz / oscuridad de 12 horas; libre acceso a trigo y agua; 23°C.

1. Inyecciones de colerotoxina en palomas:

1.a Sesión experimental: Inicialmente, cada animal fue anestesiada intramuscularmente con una mezcla de Ketamina (40 mg/Kg) y Xilacina (12 mg/ 0.1 kg; Xilavet 2%; AGROLAN). Durante toda la sesión experimental se mantuvo la temperatura corporal de cada animal a 39°C (utilizando un calefactor electrónico; FHC USA) y se aplicaron cada dos horas dosis adicionales de 0,05 ml de anestesia preparadas de manera equivalente a la dosis original.

Luego de ser anestesiada, cada paloma fue posicionada en un aparato estereotaxico (Karten and Hodos, 1967) y orientada de acuerdo a los requerimientos experimentales específicos. El procedimiento quirúrgico comenzó con la incisión y apertura epidérmica en un sector específico de la cabeza. A continuación, se extrajo una pequeña área de hueso craneal, lo cual permitió exponer y acceder a la región cerebral de interés. Las coordenadas estereotaxicas de cada sitio de inyección

(anteriores, mediales y profundidad) fueron determinadas identificando las respuestas de cada sitio (Rotundus o Nidopalio visual) a estímulos visuales presentados en el ojo contralateral. La señal electrofisiológica fue registrada mediante un electrodo de tungsteno (1 M Ω de impedancia; FHC n° catalogo UEWMGSE2NNM), amplificada (AM systems; Everett, WA; modelo 1800) y monitoreada en un osciloscopio (Tektronix, Veaverton OR; 5113) acoplado a un monitor de audio. Ambas zonas (Rotundus y NI/entopalio) presentan característicamente campos receptivos de gran tamaño con una alta sensibilidad a estímulos luminosos en movimiento.

Luego de identificado el sitio de inyección, el electrodo de registro fue reemplazado por una pipeta de vidrio (diámetro de punta interno de 20-25 micrones) que contenía entre 3 y 5 micro litros de CTB (Sub unidad B de la colerotoxina, 1% en PBS; *LIST laboratories*). Este trazador fue liberado desde la pipeta al tejido utilizando un dispositivo que genera pulsos de presión de aire (aire industrial gaseoso), con una intensidad y duración variable (Picospritzer III; Parker Hannifin Corporation). Específicamente, el protocolo de inyección consistió en pulsos de 30-40 (ms) de duración y 30-40 psi de presión de aire, a una frecuencia de 0.1 hz durante 3-5 minutos. Transcurridos 10 minutos desde la inyección la pipeta fue retirada y cada animal fue tratado con una dosis de antibiótico (Enrofloxacin 10%; Enromic) y relajante muscular (Ketoprofeno; Koralen 10%), ajustada al peso correspondiente.

1.b. Perfusión: Al cabo de 7 días cada paloma fue perfundida transcárdialmente, para lo cual se le aplicó una sobredosis de anestésico de composición similar a la utilizada durante la sesión experimental. Utilizando una bomba peristáltica (Modelo 7553-75; Coler Parker Instrument Company), se vació de contenido sanguíneo en sistema circulatorio ascendente de cada animal, perfundiendo con aproximadamente

1 litro de suero salino (0,75 %). A continuación, el tejido cerebral fue fijado por medio de su perfusión con 500 ml de paraformaldehído (PFA) 4 % en PBS 0.1 M. La cabeza completa de cada paloma mantuvo en PFA 4% en PBS, durante al menos 24 horas. Luego de este periodo, el cerebro fue extraído y mantenido en una solución de Sucrosa 30% en PBS por 5 días. Finalizado este periodo y utilizando un micrótopo de congelación (*Leitz wetzlar*, modelo 1400) se obtuvieron series coronales de 50 micrones de espesor.

1.2 Procedimiento histológico: Cada serie obtenida fue inmunohistoquímicamente tratada para revelar la marca de cada inyección siguiendo un procedimiento utilizado de manera habitual en nuestro laboratorio. Brevemente, el tejido fue preincubado en una solución uno a uno de metanol/agua destilada y peróxido de hidrógeno al 0.5 % (inhibición peroxidasa endógena). Luego, el tejido fue incubado por 12 horas en un anticuerpo primario en una solución que contuvo Triton 0,3%, suero de conejo 5%, Anti CTB hecho en cabra en una dilución 1:1000 en PBS. Posteriormente, el tejido fue incubado en una solución que contuvo Triton 0,3% y el anticuerpo secundario (antigoat BlgG-hecho en conejo) en una dilución 1:200 en PBS. Previo al revelado a través de una reacción cromogénica (DAB) el tejido fue incubado en una solución que contuvo el complejo avidina-biotina (ABC Elite Kit, Vector Laboratories) más NaCl al 4% en PBS por dos horas.

Para el revelado final de cada inyección se incubó el tejido en una solución que contuvo 0.025% 3,3-diaminobenzidina (DAB), 0.005% H₂O₂ and 0.015% CoCl₂ (intensificador de marca) en PBS por 3 minutos aproximadamente.

Para obtener detalles y referencias de este protocolo véase: Wang et al., 2006.

2. Inyecciones de DiI en palomas:

El acceso y reconocimiento de cada sitio de inyección se realizó siguiendo un procedimiento equivalente al descrito para las inyecciones de CTB (descrito anteriormente).

Para realizar las inyecciones de cristales de DiI se utilizó un aparato microinyector acoplado a un generador de pulsos de aire (Picospritzer III; Parker Hannifin Corporation), lo cual permite la liberación al tejido de pequeñas cantidades de trazador (Marín et al., 2001). Básicamente, el aparato microinyector consiste en un dispositivo de acrílico que contiene un cilindro metálico central, en cuyo interior se encuentra un vástago removible, acoplado (mediante un pistón) al generador de pulsos de aire. Operacionalmente, cada pulso de aire permite que el vástago recorra internamente el cilindro central, desplazando y expulsando el trazador hacia el tejido. El protocolo utilizado para cada inyección fue de pulsos de aire de 30 ms de duración y 30 Psi de presión. Para una descripción más detallada del aparato microinyector véase Marín et al., 2001.

Finalizada la sesión experimental cada paloma fue tratada con una dosis única de antibiótico/paracetamol (Enrofloxacina 10% / Ketoprofeno), para luego permanecer en el Bioterio del laboratorio por un tiempo de 7 días. Finalizado el tiempo de sobrevida, cada paloma fue perfundida transcardialmente siguiendo un protocolo similar al descrito en el caso de aquellos animales inyectados con CTB (punto 1.b).

3. Deposito manual de cristales de biocitina en pollos:

3. a. Sistema experimental:

El depósito de cristales de biocitina sobre rebanadas de cerebro de pollo vivas, tiene dos requerimientos fundamentales: a) La extracción y enfriamiento del cerebro

completo en un tiempo no superior de dos minutos y b) La mantención de cada rebanada inyectada, en condiciones vitales, por un tiempo superior a tres horas. En general se utilizó un sistema y procedimiento experimental similar al descrito por Wang y colaboradores (2006)

3.b. Obtención de rebanadas vitales: Cada animal fue anestesiado con éter y luego perfundido transcardialmente con 50 ml de solución de registro fría (120 mM NaCl, 3 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 1.2 mM NaH₂PO₄, 23 mM NaHCO₃, and 11 mM D-glucosa; PH: 7,4; Luksh et al., 1998). Cada animal fue sacrificado por decapitación y la extracción del cerebro se realizo rápidamente (no más de un minuto) utilizando material quirúrgico estándar. Inmediatamente después de ser extraído, cada cerebro fue enfriado durante 10-15 minutos, en una cámara de acrílico que contiene una solución enriquecida en sucrosa (240 mM sucrosa, 3 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 1.2 mM NaH₂PO₄, 23 mM NaHCO₃, and 11 mM D-glucosa). Posteriormente, utilizando un vibratomo (leica VT 1200), cada cerebro fue reseccionado (variando el espesor de cada sección entre 500-1000 micrones) y cada serie de rebanadas obtenida, fue incubada por 10 minutos en la solución de registro, previo a su manipulación individual de cada una para ser inyectada.

3. c. Depósito de cristales de biocitina en rebanadas:

El depósito de cristales de biocitina se realizó manualmente a través de un haza de tungsteno, utilizada para recoger y depositar cada cristal (Figura 13). Este procedimiento permitió realizar inyecciones múltiples rápidamente, minimizando el tiempo de manipulación de cada rebanada. Después de realizadas las inyecciones el tejido fue incubado por un tiempo de 5 a 6 horas, en una cámara que contuvo aproximadamente 200 ml de solución de registro (descrita anteriormente) y que fue

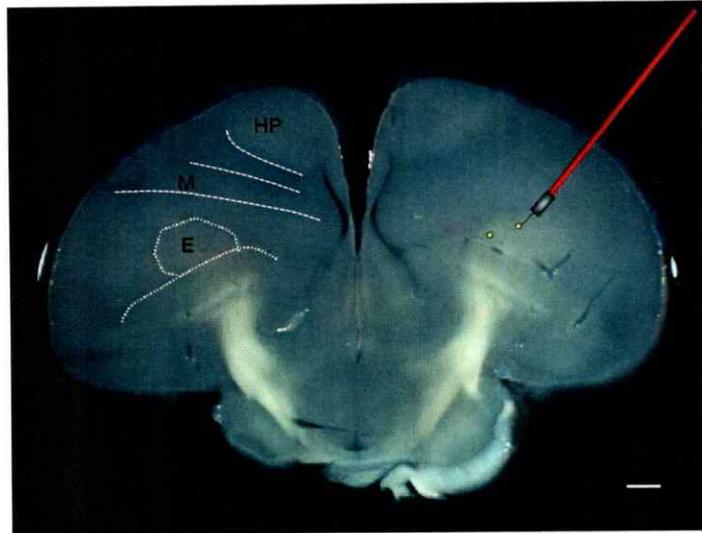


Figura 13

Rebanada coronal de cerebro de pollo al momento al momento de ser inyectada: La figura muestra el modo en que se visualiza una rebanada de cerebro de pollo en el momento de ser inyectada con trazadores cristalinos de alta sensibilidad (biocitina / DiI). Se ejemplifica el instrumento (haza) utilizado para recoger e depositar cada cristal. Note que las principales estructuras telencefálicas son fácilmente distinguibles bajo un sistema de iluminación común. Lo cual hace más preciso el procedimiento de inyección. Este tipo de inyecciones ha sido simple o múltiple (dos o tres cristales por rebanada) y cada depósito abarca un área aproximada de entre 50-200 μm de diámetro. Barra calibración: 500 micrones.

continuamente burbujeadas con una mezcla de oxígeno y dióxido de carbono (5% CO₂; 95 % O₂), a temperatura ambiente (21°C). Luego del periodo de 5-6 horas de incubación, las rebanadas inyectadas fueron fijadas con PFA 4% frío en PBS por dos horas.

3.d. Revelado de la inyección:

El tejido fue mantenido por 24 horas en una solución enriquecida en sucrosa (30 % en PBS) previo a su resecionamiento por medio de un micrótopo de congelación (*Leitz wetzlar*, modelo 1400). De esta manera, se colectaron series de aproximadamente 30 micrones de espesor, las cuales fueron tratadas inmunohistoquímicamente para determinar el patrón de marca en cada caso. Brevemente, cada serie fue preincubada en una solución uno a uno de metanol/ agua destilada y H₂O₂ al 0,5 %. Esto permitió inhibir la actividad de la peroxidasa endógena. Luego, el tejido fue incubado por 12 horas en una solución que contuvo el complejo avidina-biotina (Tritón x-100 0.3%, NaCl 2% en PBS 0,1 M). Posteriormente a través de una reacción cromogénica que siguió un protocolo similar al caso de las inyecciones de CTB en palomas (ver más arriba), se reveló el patrón de marca de biocitina en cada serie tratada.

4. Llenado intracelular:

4.a. Obtención de rebanadas: El llenado intracelular de neuronas nidopaliales y estriatales se realizó a partir de tejido semifijado de pollos de entre 1 y 5 días post-eclosión. Para esto cada animal fue anestesiado en una cámara de éter y transcardialmente perfundido con 100 ml de PSB y 100 ml de PFA 3% en PBS, frío. El cerebro fue extraído y post-fijado por 15 minutos (fijación suave) antes de su

reseccionamiento coronal y sagital, en un vibratomo (Vibroslice 752 M, Camden Instrument). Se obtuvieron rebanadas de entre 200 y 300 micrones, las cuales fueron mantenidas en PFA 0.5 % en PBS hasta el momento de ser inyectadas.

Células individuales fueron visualizadas en un microscopio (Olympus BX51WI) utilizando Óptica Nomarski y empaladas con un electrodo de vidrio (40-120 Mohm) que contuvo una solución de biocitina-rodamina al 2%. La incorporación del trazador se realizó mediante pulsos de corriente positiva de entre 2-5 nA y 5-15 minutos de duración, generados por un amplificador de registro intracelular (NeuroData, Instrument Corporation). Posteriormente cada rebanada fué fijada en PFA 4% en PBS por tres horas previo a su tratamiento histoquímico.

5. Registro y análisis de los resultados:

Todas las imágenes derivadas de inyecciones de CTB, Biocitina y DiI fueron analizadas y registradas utilizando un microscopio óptico convencional (Olympus BX-61) equipado con epifluorescencia y una cámara digital de alta sensibilidad (Spot RT, digital instruments).

Las imágenes confocales de DiI fueron capturadas con un microscopio Axiovert 200 Zeiss con una unidad Confocal *Spinning Disk* Perkin Elmer (Modelo Ultraview; lente25x; apertura numérica de 0,8). Cada imagen fue procesada y las figuras reconstruidas para su presentación utilizando ADOBE Photoshop (CS3).

6. Cámara lúcida:

En el caso de inyecciones de biocitina en rebanadas vivas y en inyecciones intracelulares en tejido fijado, el registro se realizó a través de la reconstrucción en cámara lúcida. Utilizando un microscopio óptico (Olympus BX-61) se logró realizar la reconstrucción de células individuales, columnas de axones y/o regiones terminales, a partir de rebanadas consecutivas que contenían por separado la información requerida. Cada dibujo fue escaneado (*canon slide L200*) a una resolución de 600 dpi, para su posterior composición digital (CS3)

Las figuras y esquemas complementarios se realizaron en el programa CANVAS.

Resultados

1. Organización nidopalial de las proyecciones colotalámicas visuales:

Descripción de la proyección rotundus-nidopalio visual: El estudio de la organización de las aferencias rotundas sobre el nidopalio visual (incluido entopalio) se realizó combinando inyecciones de un trazador anterogrado/retrogrado (CTB) y retrogrado (DiI).

1.a. Inyecciones de DiI:

En palomas, realizamos una serie de inyecciones de DiI a través del nidopalio visual (incluido entopalio) cubriendo una extensión rostro-caudal de aproximadamente 3,0 mm (desde A 11,5 hasta A 9,00) y una extensión medio-lateral de 2,5 mm (desde lateral 3,5 hasta 6,0). Con esto mapeamos la presencia de fibras y/o terminales rotundas desde el límite medial del entopalio hasta la región lateral del nidopalio intermedio (NI) (Figura 15). Agrupamos estos resultados en la Tabla n°1, donde se muestran las coordenadas de inyección específicas para los 23 animales analizados, y las subdivisiones del rotundus retrógradamente marcadas en cada caso. Estereotaxicamente, el entopalio de palomas tiene una extensión rostro-caudal de aproximadamente 3 mm (desde A: 11,5 hasta A: 8,5) (Karten y Hodos, 1967). Las inyecciones realizadas se concentraron principalmente en la región central-anterior del entopalio (A: 11,5 y 9,0). Además, en dos casos el depósito de cristales fue realizado en el mesopalio, lo cual permitió definir el límite dorsal de las proyecciones rotundas. Para cada inyección se estimó el número aproximado de células marcadas a través de distintos niveles rostro caudales del rotundus. Esto nos permitió definir un criterio para comparar las diferencias entre subdivisiones.



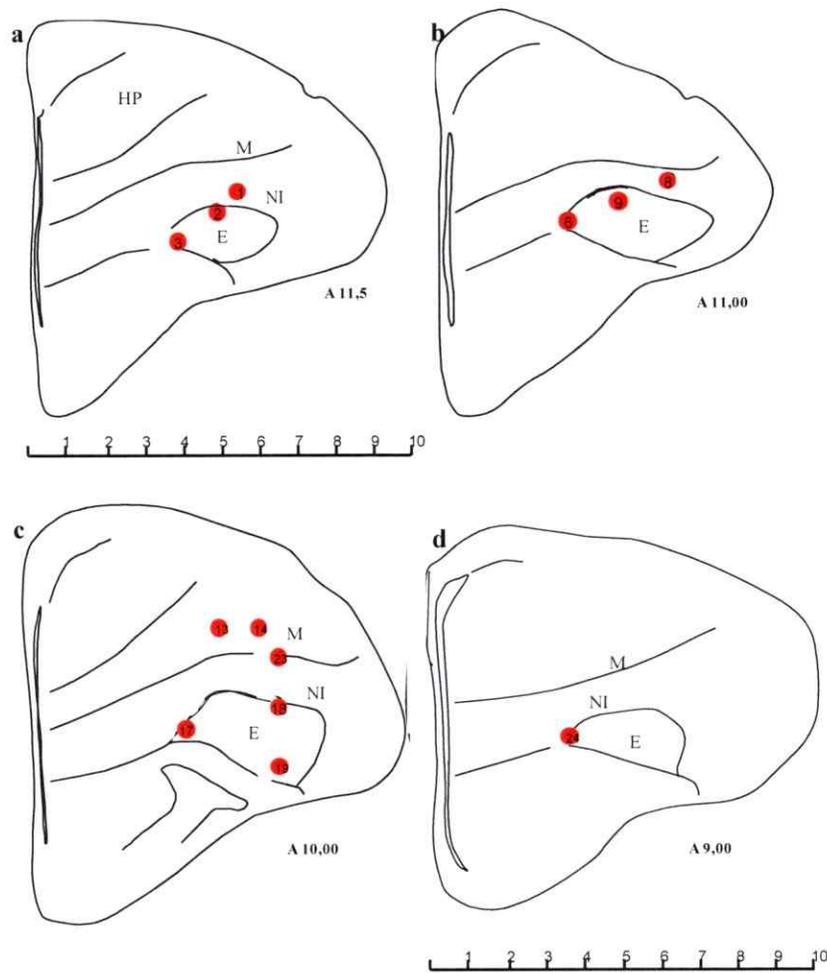


Figura 14

Inyecciones de Dil en palomas, *in vivo*: (a) – (d): Serie coronal rostro-caudal diagramática de telencéfalo de paloma, ejemplificando la posición de los distintos tipos de inyecciones de Dil realizadas a través del nidopalio visual. Las reglillas corresponden a las coordenadas medio-laterales estereotaxicas del cerebro de paloma (Karten y Hodos, 1967). Cada número (círculos rojos) corresponde a un caso específico escogido entre el total de 24 analizados. Todos los casos se han agrupado en la tabla n°1. A través de inyecciones puntuales de Dil logramos mapear la presencia de fibras o axones de origen rotundal a través del nidopalio y entopalio (E), más anteriores.

HP, hiperpalio; M, mesopalio; NI, nidopalio intermedio.

Tabla 1

		Resultados de inyecciones de Dil en Entopatio / NI/mesopatio								
Caso	Coordenas sitio inyección en E/NI/M	Subdivisiones de rotundus marcadas								
		Dam	Dal	Ced	Cev	Postd	Postv	Ta	Tp	DLP
1	A 11,5/lat 5,5/ NI anterior	++	++	+	-	-	-	+	-	-
2	A 11,5/lat 4,8/dorsal	++	++	-	-	-	-	-	-	-
3	A 11,5/lat 4,0/ventral	++	++	+	-	-	-	+++	++	-
4	A 11,5/lat 4,0/ventral	++	-	-	-	-	-	+	++	-
5	A11,5/lat 4,5/dorsal	++	++	-	-	-	-	-	-	-
6	A 11,25/ lat 3,5	++	-	-	-	-	-	+++	+++	-
7	A 11,25/lat 4,0	+	-	-	-	-	-	++	++	-
8	A11,00/6,0/NI	++	+	+	-	-	-	+++	++	-
9	A11,00/4,5/dorsal	++	+	+	-	-	-	+++	++	-
10	A11,00/4,5/dorsal	++	+	+	-	-	-	+++	+++	-
11	A 10,7/lat 4,5/dorsal	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-
12	A 10,5/lat 4,3/dorsal	+++	++	+	-	-	-	+	-	-
13	A 10,5/lat 5,0/ mesopatio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	A 10,5/ lat 6,0/ mesopatio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	A 10,5/lat 4,3/dorsal	+++	++	+	-	-	-	+	-	-
16	A 10,25/ lat 5,0	++	++	++	-	+	-	++	++	-
17	A 10,0 lat 4,0/ventral	+++	-	+	-	-	-	+++	+++	++
18	A10,0/lat 5,5 /ventral	++	++	+	+++	-	-	-	+	-
19	A10,0/ lat 5,5 /dorsal	+++	+++	+++	+	+	-	-	+	-
20	A 10,0/lat 4,5	++	-	+	-	-	-	++	+++	-
21	A 10,0/lat 5,0	++	+	+	-	-	-	++	+	-
22	A 10,0/lat 4,5/lat 6,0	++	-	+	-	+	+	+	+++	-
23	A9,7/lat 5,5/ lamina mesopalial	++	++	++	+	+	-	-	+	-
24	A9,0/lat 4,0/ventral	-	-	-	-	+	+	+	+++	++

Inyecciones de Dil en palomas, *in vivo*: Resumen de las inyecciones de Dil en el nidopatio visual de palomas. Las columnas 1 y 2 indican el número de casos y las coordenas estereotaxicas de cada inyección (desde A11,8-A9,0) respectivamente. Se indican las subdivisiones rotundas retrógradamente marcadas; Dam: dorsal anterior medial; Dal: dorsal anterior lateral; Ced: centralis dorsal; Cev: centralis ventral; Postd: posterior dorsal; Postv: posterior ventral; Ta: triangularis anterior; Tp: triangularis posterior. DLP: núcleo dorsal lateral posterior. .

En cada caso, se contabilizó en número aproximado de celulas marcadas en cada subdivisión (++) es la mayor marca observada. Aproximadamente el triple de celulas que (+). (-) No se observaron celulas marcadas.

En primer lugar y en correspondencia con los antecedentes existentes (Benowitz y Karten, 1976; Husband y Shimizu, 1999; Krutzfeld y Wild, 2005; Fredes et al., 2010) confirmamos la topografía rostro-caudal de la proyección rotundus-entopalio, puesto que solo aquellas inyecciones localizadas en el entopalio central o posterior (A 9,5 y 9,0) muestran neuronas rotundales retrógradamente marcadas en las subdivisiones centralis (Ce) y posterior (Post) (Tabla 1, casos 19,22 y 24). De manera inversa, las inyecciones localizadas entre las coordenadas más anteriores (A 11, 5 y 10,5) dejan un patrón de marca retrograda que compromete principalmente la subdivisión dorsal anterior del rotundus (Da) (ej: casos 1, 2 y 5 Tabla 1). Sin embargo cabe destacar el carácter parcial de estos resultados, puesto que no exploramos la topografía rostro-caudal de esta proyección en toda su extensión. Por lo tanto, nuestros resultados respecto de este punto, son complementarios a los antecedentes existentes.

Por otro lado, realizamos inyecciones centradas en una misma coordenada anterior (A 10,0) pero en distinta posición lateral dentro del entopalio. El resultado de este tipo de inyecciones muestra grupos de células rotundales retrógradamente marcadas separadas medio-lateralmente, lo cual sugiere la existencia de una topografía medial-lateral para la proyección rotundus-entopalio (Tabla 1, ej.: casos 17/20 versus 18/19). Esto fue confirmado con los resultados de las inyecciones de CTB en el rotundus (descrito más adelante).

Además realizamos inyecciones en el entopalio que coinciden en las coordenadas anteriores y laterales (A 10,0/ lat. 5,5), difiriendo solamente en la posición dorso-ventral dentro de este núcleo (Figura 15).

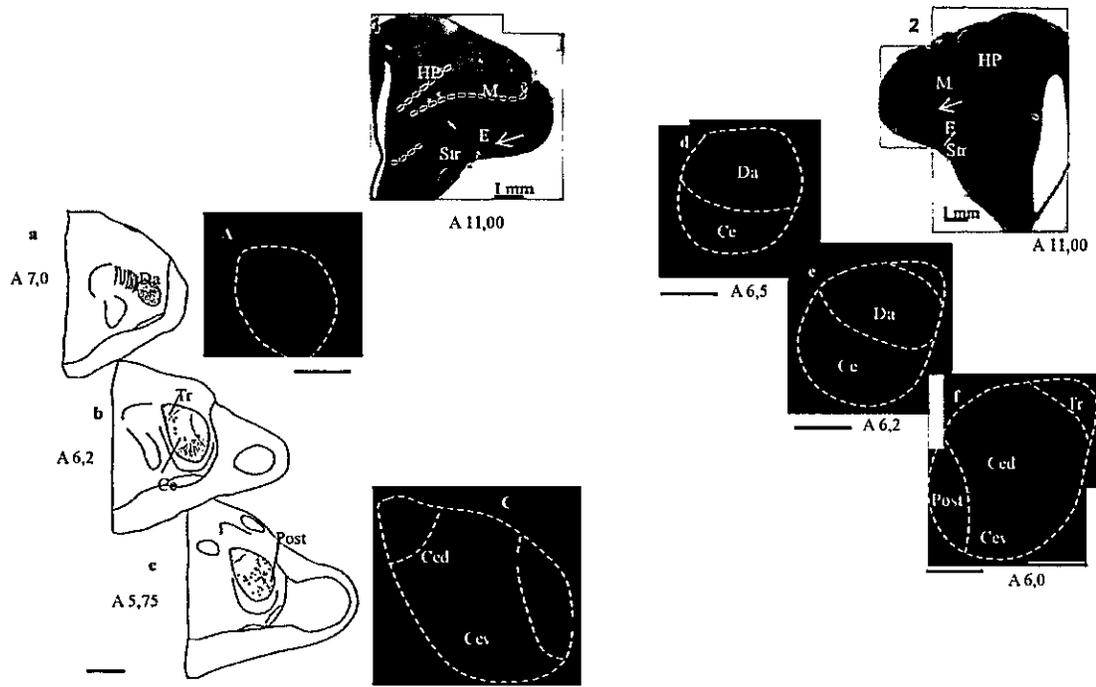


Figura 15

Topografía dorso-ventral de la proyección rotundus - entopallio: Diagramas de dos casos (1 y 2) de palomas inyectadas con DiI en la región del entopallio (flechas). Solo se varió la profundidad de cada inyección. En cada caso se muestra una serie rostro-caudal del tálamo indicando el patrón de marca retrógrado encontrado a nivel rotundus. Note que el grupo de células retrógradamente marcadas difiere en la posición dorso-ventral del rotundus, de manera correspondiente con la localización de cada inyección. Esto apoya la idea de una segregación dorso-ventral de la proyección rotundus-entopallio.

(Da), subdivisión dorsal anterior; (Tr), triangularis; (Post), subdivisión posterior; (Ce), centralis; (Cev), sector ventral de subdivisión centralis; (Ced), sector dorsal de subdivisión centralis. M: mesopallio. Barras de calibración: (a- c):1,0 mm; A, C y d-f: 0,5 mm).

El patrón de maca retrogrado sugiere la existencia de dos zonas distintas a nivel rotundal, segregadas dorso-ventralmente, que llamaremos el componente ventral (Cev) y dorsal (Ced) del rotundus central (Ce) (Tabla 1, ej.: casos 18 versus 19).

Del conjunto de inyecciones de DiI realizadas, en 5 casos estas quedaron localizadas en la región límite entre el entopalio y NI, pero solo en 4 casos los cristales fueron depositados fuera del entopalio, directamente en el NI (Tabla 1, casos 1, 8 y 23) (Figuras 16 y 17; Apéndice: Figuras complementarias 16b; 17b). En todos estos casos, se observaron poblaciones de neuronas rotundales retrógradamente marcadas cuya posición varió de acuerdo con la localización de cada inyección. Estas poblaciones incluyeron al menos dos subdivisiones del rotundus.

Las inyecciones que quedaron localizadas en el mesopalio (2 casos), no presentan marca en el núcleo rotundus (Tabla 1).

En resumen, nuestros datos sugieren que existen terminales rotundales que alcanzan la región más dorsal del entopalio e invaden el NI, extendiéndose hasta el borde de la lamina mesopalial (límite entopalio mesopalio). Son necesarios estudios adicionales para confirmar si esta proyección, rotundus-nidopalio intermedio, es topográfica rostro-caudalmente.

Figura 16 (pág. siguiente) **Proyección rotundal al nidopalio intermedio (NI) anterior:** Diagramas (series rostro-caudales) de tres casos distintos donde se encontró grupos de neuronas rotundales retrógradamente marcadas luego de inyectar distintos sectores del nidopalio intermedio. La localización de las células rotundales varió con la posición de cada inyección de DiI. Estos casos representan evidencias de la existencia de fibras y/o terminales rotundales en una región adyacente al entopalio (NI)

(Da), subdivisión dorsal anterior; (Tr), triangularis; (Post), subdivisión posterior; (Ce), centralis; (Cev), sector ventral de subdivisión centralis; (Ced), sector dorsal de subdivisión centralis. M: mesopalio. Barras de calibración: 1 mm.

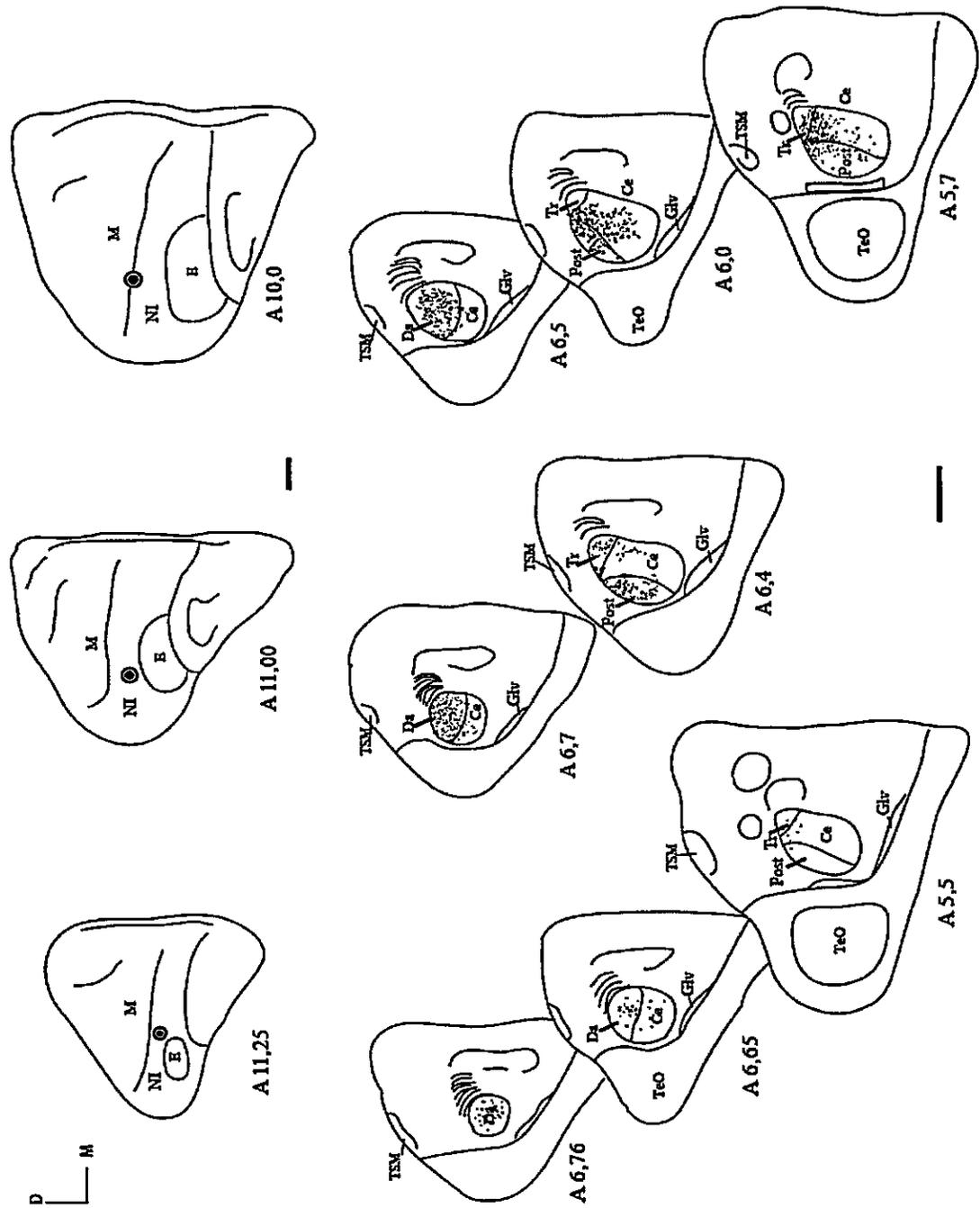


Figura 16

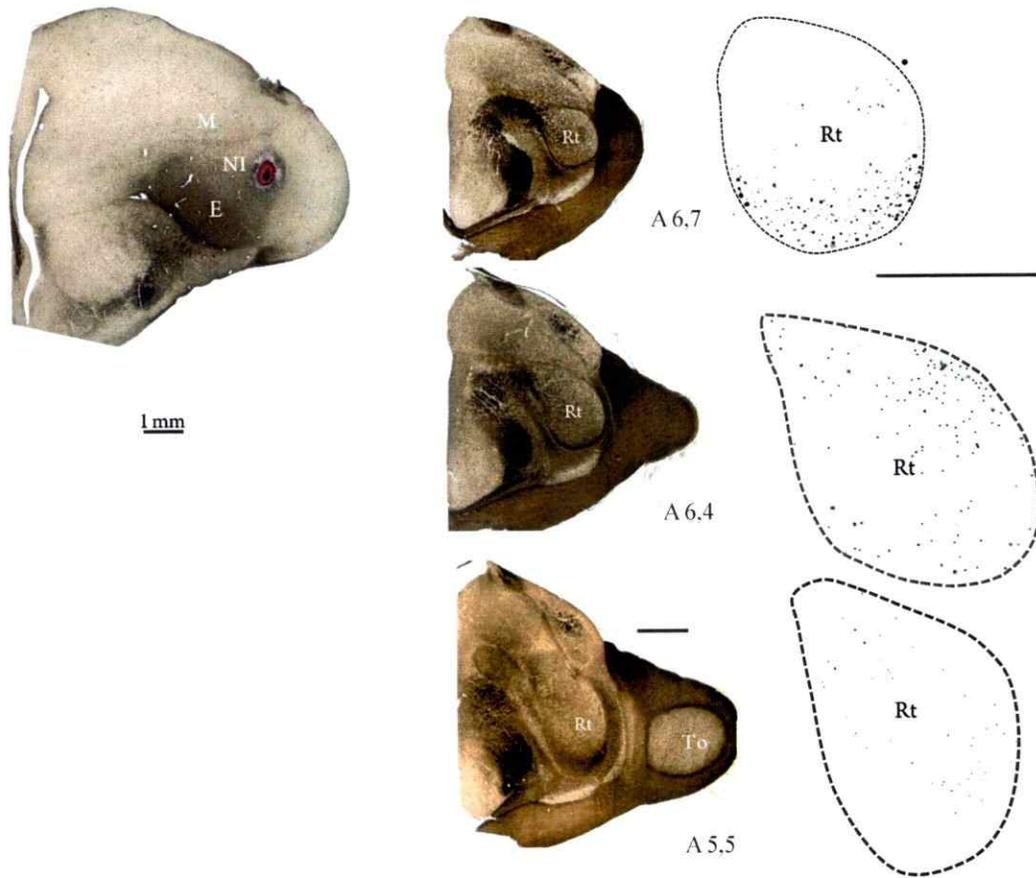


Figura 17

Proyección rotundal al nidopalio intermedio (NI): Inyección de Dil en el NI lateral, dorsal al entopalio. Al centro se muestran imágenes de las secciones del tálamo que fueron consideradas para evidenciar la presencia de células marcadas retrógradamente a nivel rotundal. En la izquierda de muestra, para cada nivel, reconstrucciones digitales de imágenes de fluorescencia (dispuestas en escala de grises e invertidas en color) que permiten distinguir las células del rotundus que proyectarían al sector inyectado. M: mesopalio; E: entopalio; Rt: rotundus; To: tectum óptico. Barra calibración: 1mm.

1.b Inyecciones de CTB:

Para determinar la organización de las aferencias rotundas sobre el nidopalio y confirmar la existencia de axones rotundas terminando en la región del nidopalio intermedio, realizamos inyecciones de colerotoxina (CTB) centradas en el núcleo rotundus, con un grado variable de contaminación de zonas adyacentes. La extensión de cada inyección fue corroborada observando, en el hemisferio opuesto, la presencia de terminales de células tectales que proyectan bilateralmente al rotundus. Inyecciones de CTB localizadas en el borde más lateral del rotundus, muestran que esta región proyecta tanto a la zona más lateral del entopalio como al nidopalio intermedio lateral (Figuras 18, 19 y 19b). A su vez, inyecciones de CTB que incluyen la subdivisión medial del rotundus (*triangularis*) resultan en el marcaje anterogrado de dos zonas terminales separadas dorso-ventralmente (descritas más adelante) (Figura 20). Además, si la inyección se sitúa en una coordenada medial al rotundus (sin incluirlo) el patrón de marca anterogrado indica la existencia de una región terminal en la región del nidopalio medial (Figura 21). Esto es consistente con los antecedentes existentes y da cuenta de la existencia de una topografía medio-lateral general, para las proyecciones tálamo-nidopaliales (Wild., 1987)

En síntesis, hemos descrito que la proyección rotundus-nidopalio visual se organiza topográficamente en el sentido medio-lateral (éste patrón se extiende al resto del colotalamo). Además, la región colorecipiente visual se extiende al nidopalio intermedio (lateral y medial) del DVR de aves (Figura 21b).

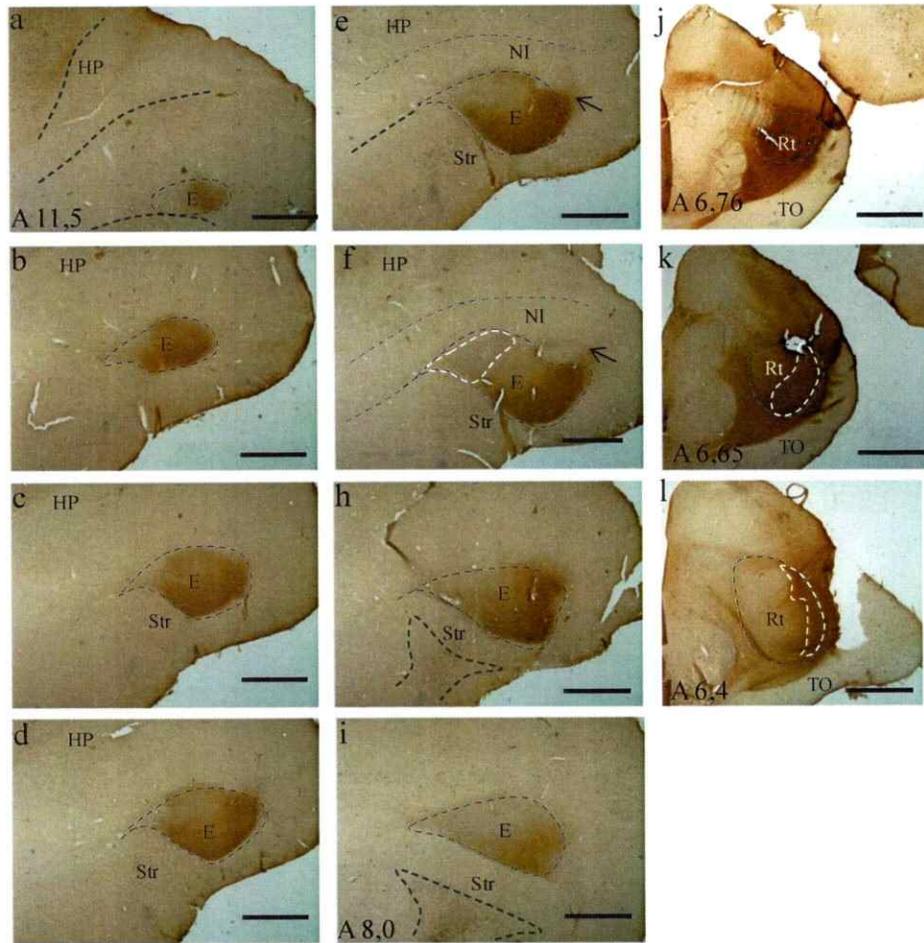


Figura 18

Topografía medio-lateral de la proyección rotundus-nidopalio visual: (a)-(i): Serie coronal rostrocaudal mostrando el resultado de una inyección de CTB en el rotundus lateral y anterior (j-l). Además, la inyección incluye de manera leve la parte más lateral del rotundus posterior (l). El patrón de distribución anterogrado muestra que el rotundus lateral proyecta al entopalio más lateral, siendo posible además observar terminales rotundas fuera del entopalio (flechas en e y f) en la zona del NI lateral. Note la ausencia de marca en la región medial del entopalio (líneas punteadas blancas en f). Barras de calibración: 1,0 mm.

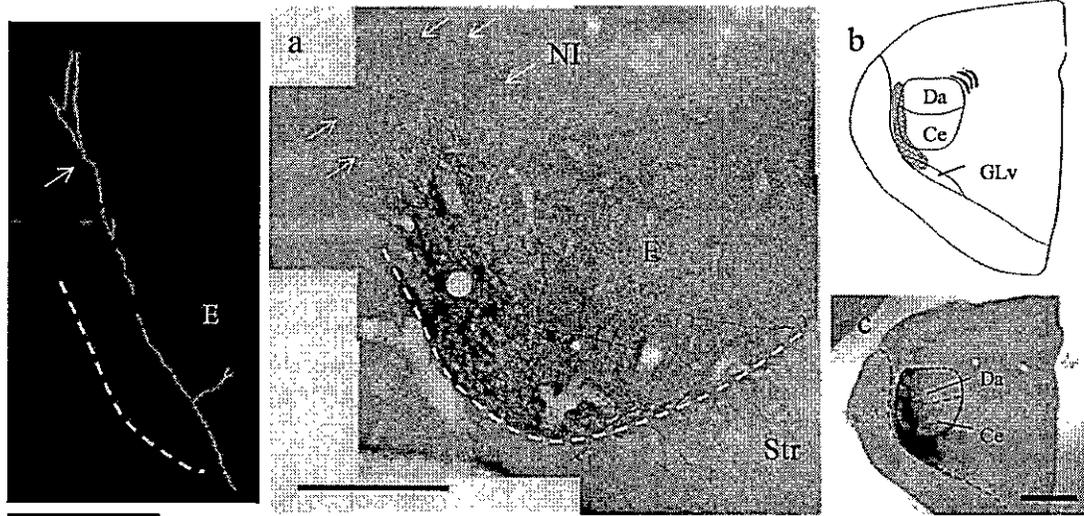


Figura 19

Proyección desde el rotundus al entopodio lateral: En (a) se muestra el resultado de una inyección que incluyó la zona lateral de las subdivisiones dorsal anterior (Da) y centralis (Ce) rotundas (b y c). Note la presencia de un grupo de fibras rotundas en la región lateral del entopodio (E) y del nidopodio intermedio (NI, flechas en a). En la izquierda se muestra uno de los axones rotundas reconstruidos en cámara lúcida (los colores fueron invertidos para mejorar el contraste). Es posible observar que esta fibra genera una colateral en la zona ventral y termina de manera principal en el límite (flecha) entre el entopodio y el NI. Este resultado sugiere la existencia de una región terminal de aferencias rotundas en la zona del NI lateral. Barras calibración: 1mm.

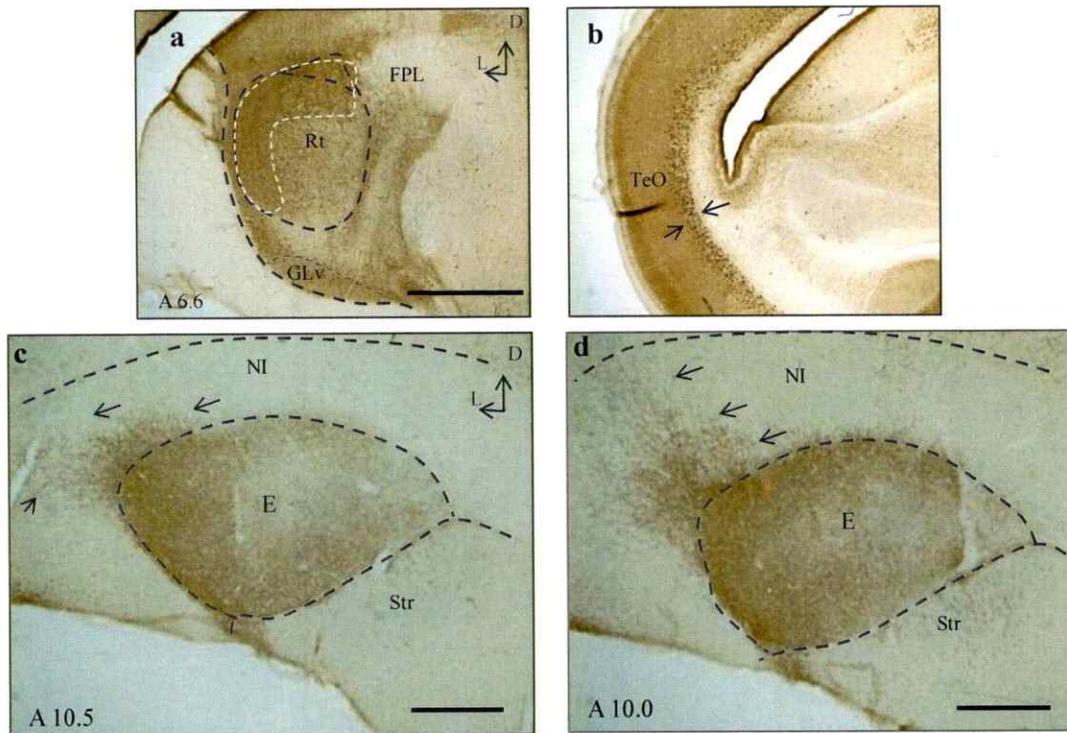


Figura 19b

Proyección rotundal al nidopallio intermedio y lateral: En (a) se muestra el sitio principal de una inyección de CTB en el tálamo anterior de paloma. Esta inyección incluyó el sector más lateral y dorsal del rotundus (Rt) anterior (no se observó marca en el resto de las subdivisiones rotundales). En (b) se muestra el patrón de marca retrógrada a nivel del tectum óptico (TeO), destacándose la capa 13 tectal (sugerida entre flechas). En (c) y (d) se muestran dos secciones coronales de telencéfalo, en donde se pueden distinguir terminales rotundales en el entopallio (E) lateral y nidopallio intermedio (NI) lateral (flechas)

SGC, *stratum griseum centrale*; Str, estriado; GLV: geniculado lateral ventral.

Barra calibración 500 micrones.

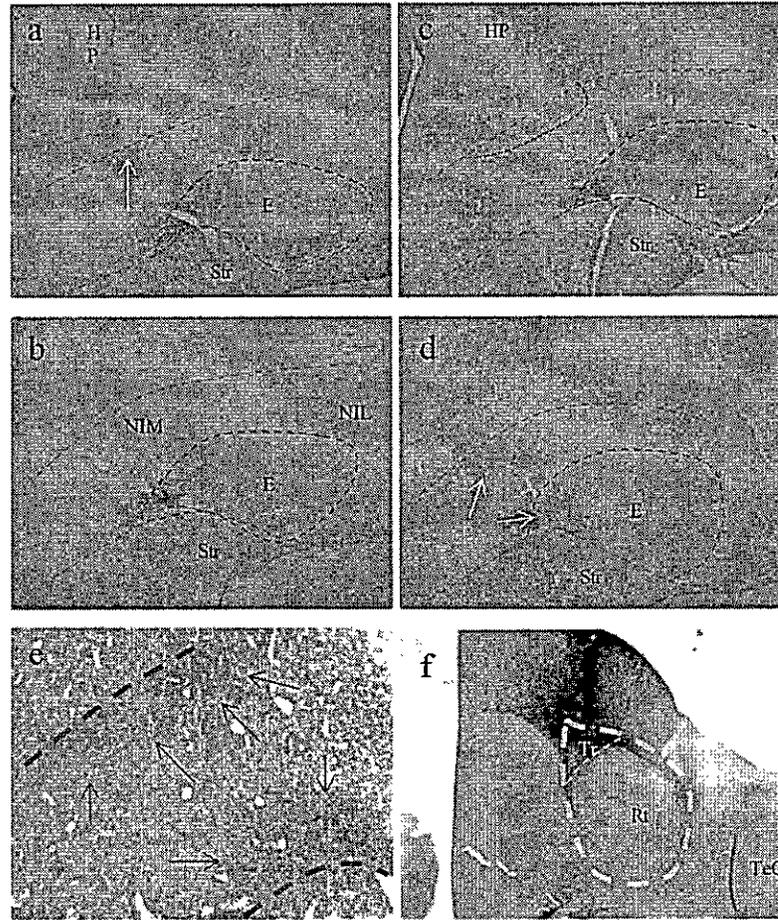


Figura 20

Proyección de triangularis al nidopalio visual medial: (a)-(i): Serie coronal rostrocaudal mostrando el resultado de una inyección de CTB en el rotundus lateral y anterior (j-l) a nivel entopalial. La inyección incluye la parte mas lateral del rotundus posterior (l). El patrón de distribución anterogrado muestra que el rotundus lateral proyecta al entopalio mas lateral, siendo posible además observar terminales rotundas fuera del entopalio (flechas en e y f). Note la ausencia de marca en la región medial del entopalio (líneas punteadas blancas en f). Barra calibración: 500 micrones. NIM: nidopalio intermedio medial; NIL: nidopalio intermedio lateral.

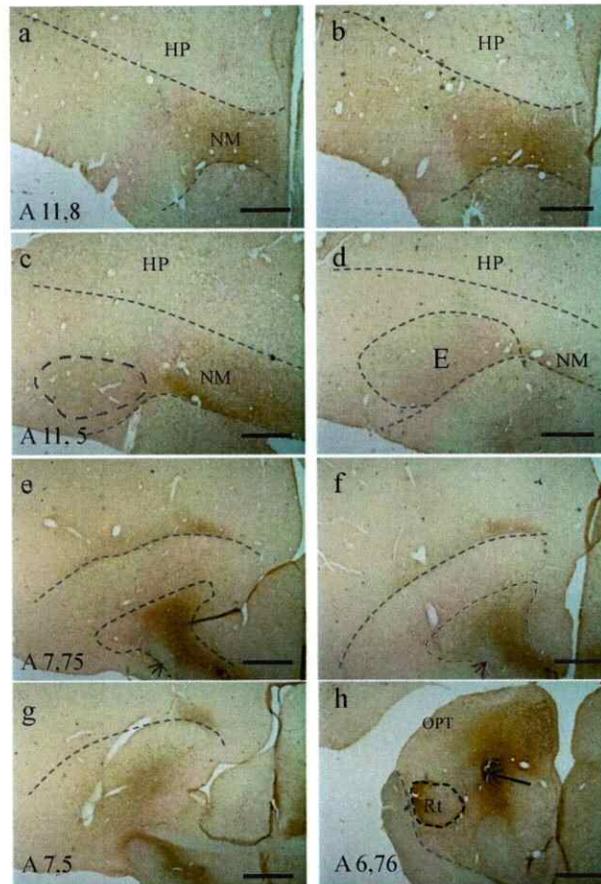


Figura 21

Topografía medial-lateral de las proyecciones tálamo-nidopaliales: (a)-(g): Serie coronal rostro-caudal de telencéfalo de paloma, mostrando el resultado de una inyección de CTB localizada en la región del tálamo medial, cercana al rotundus mas anterior (flecha en **h**). El patrón de marca anterogrado muestra una región terminal en el nidopalio medial, expandida rostro-caudalmente, próxima al entopalio (**c** y **d**). Este resultado confirma el ordenamiento medio-lateral de las proyecciones tálamo-nidopaliales. Note que el sector ocupado por el núcleo Óptico Principal Talámico (OPT), que es el componente visual del sistema lemnotalámico, no está comprometido en esta inyección, lo cual justifica la ausencia de fibras y terminales en la región del hiperpalio (HP). La marca lateral del rotundus se debe a una inyección realizada en este núcleo pero en el hemisferio opuesto, por lo tanto corresponde a la imagen contralateral tectal y no se considera como participante del sistema de aferencias descrito en esta figura. Barras de calibración: 1 mm.

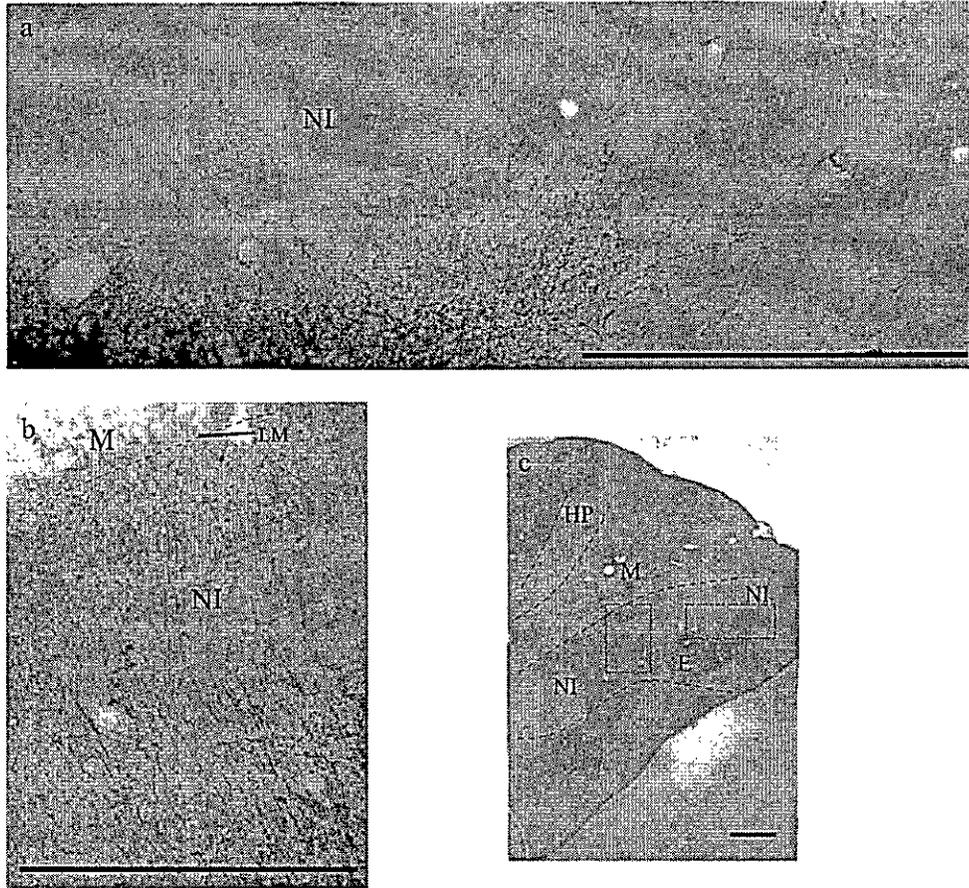


Figura 21 b

Terminales rotundales en el nidopalio intermedio: Resultado de una inyección de CTB en el núcleo rotundus anterior que incluye la subdivisión rotundal Triangularis. (a) y (b) muestran la presencia de fibras rotundales en la región lateral y medial del entopalio (E), respectivamente. (c) panorámicamente, muestra los sectores (rectángulos punteados) detallados en (a) y (b). Este resultado apoya la hipótesis de la presencia de axones rotundales en la región del nidopalio intermedio (NI). Para más detalles de éste caso, véase apéndice: Figura 21b

HP, hiperpalio; M, mesopalio; NI, nidopalio intermedio.

Barras calibración: 1mm.

2. Proyección de Triangularis y DLP al entopallio medial:

8 casos de palomas inyectadas con DiI en la región medial del entopallio anterior y central (Tabla 1: A 11.25-10.0 / lateral 3,5-4,5) permitieron definir un patrón de marca celular retrograda a nivel rotundal que, por su posición, coincide con la localización estereotáctica de la subdivisión triangularis (Figura 22). Confirmamos este resultado por medio de inyecciones anterogradas de CTB centradas en triangularis, que definen una zona de terminales anterogradamente marcados en la zona medial del entopallio anterior y central (desde A 11,25 hasta A 10,00) (Figuras 20 y 23). Además, este tipo de inyecciones muestran la presencia de una segunda región terminal a nivel del nidopallio dorsal, adyacente a la lamina mesopallial. Es decir, la proyección nidopallial de triangularis ocuparía el sector medial del entopallio y parte del nidopallio intermedio dorsal (Figura 24). Además, en un caso la inyección fue localizada en la región central-lateral del rotundus, sin contaminar la subdivisión triangularis y el patrón de marca anterogrado muestra la ausencia de marca en la zona medial entopallial (Figura 25). Preliminarmente, a partir de la posición rostro-caudal, interpretamos la presencia de aquella banda de terminales próxima la lamina mesopallial como una segunda zona terminal de la subdivisión triangularis del núcleo rotundus. Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar este punto (específicamente inyecciones puntuales de DiI en aquella zona).

Por otro lado el principal obstáculo para dilucidar la región terminal de DLP en el nidopallio fue el reducido tamaño de este núcleo y su proximidad a la subdivisión triangularis del rotundus. Invariablemente, nuestras inyecciones contaminaron parte

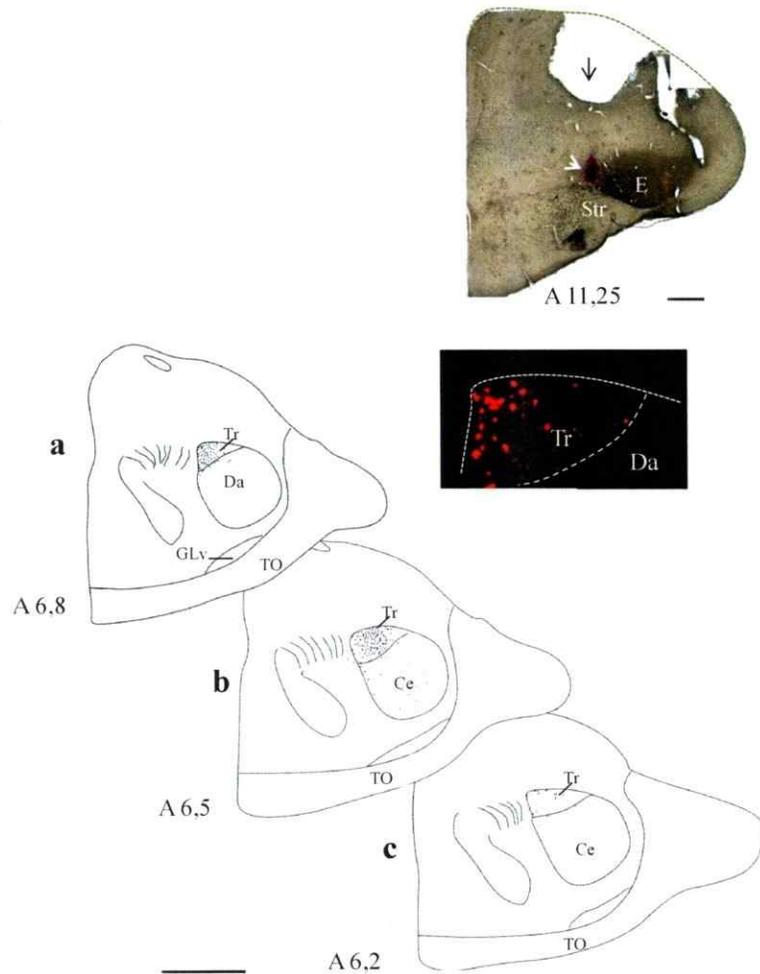


Figura 22

Proyección desde triangularis al nidopatio medial: (a)-(c): Diagrama de una serie rostro-caudal del tálamo de paloma, indicando el resultado de una inyección de DiI en la región del entopatio (E) medial (d) (A 11.2). Observamos células rotundas retrógradamente marcadas principalmente en la subdivisión triangularis (Tr) y en menor medida en dorsal anterior (Da). No se observó marca en el resto de núcleo (Ce y Post). Esto sugiere que Tr posee una región terminal nidopatia restringida al sector medial de E. (**Tabla 1, caso 7**)

El surco dorsal del telencéfalo (flecha negra), producto de una depresión de la superficie cerebral, coincide con la ventana craneal realizada durante la sesión experimental. M, mesopatio; TO, tracto óptico; Str, estriado. Barras de calibración: 1.0 mm.

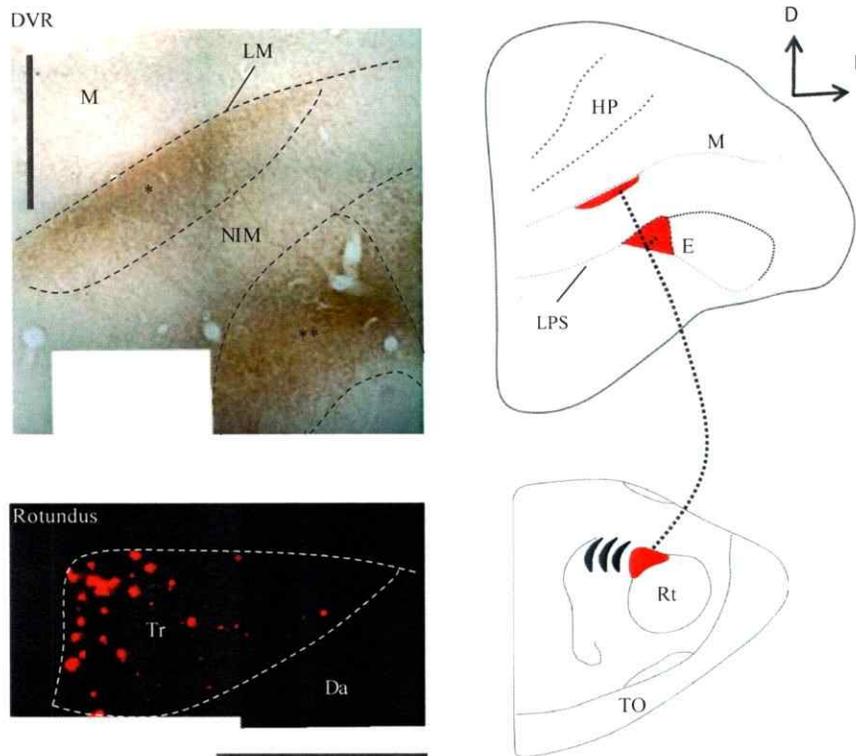


Figura 24

Región terminal de triangularis: A través de inyecciones de Dil y CTB hemos confirmado la localización de la región terminal de la subdivisión triangularis sobre el DVR sensorial de aves. La región terminal principal (*) se localiza sobre la lamina palio-subpalial (LPS), constituyendo el componente medial del entopalio. Además, existiría una banda terminal adicional (**) adyacente a la lamina mesopalial (LM). La figura izquierda es un esquema de la organización de ésta proyección. Note que, siendo Triangularis el componente más medial del rotundus, su proyección al DVR mantiene la posición relativa a nivel nidopalial (entopalial). Barra calibración: 500 micrones.

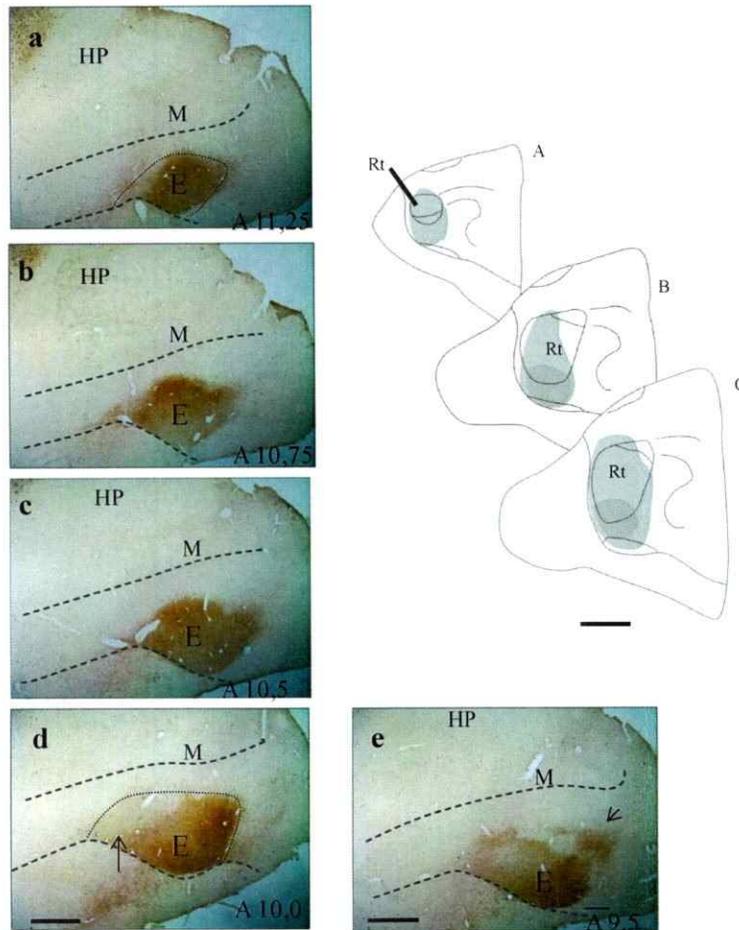


Figura 25

Proyección desde el rotundus al entopallio lateral: (a) – (e): Serie coronal rostro-caudal de telencéfalo de paloma mostrando el resultado de una inyección de CTB en el núcleo rotundus anterior y central. Note en (e) la presencia de fibras rotundas en la región lateral del entopallio (E) y en el nidopallio intermedio (NI) (flechas). En (A) – (C) se representa diagramáticamente la extensión de esta inyección, la cual incluye gran parte del rotundus, salvo la subdivisión triangular. Cabe destacar la ausencia de marca anterograda en la zona medial entopallial, precisamente en el sector terminal de la subdivisión triangularis. Barras calibración: 1mm.

de esta subunidad rotunda. La identificación electrofisiológica inequívoca de DLP, (descrita como multimodal) fue igualmente dificultosa, confundiéndose comúnmente con las respuestas visuales de triangularis. Sin embargo, en dos casos (tabla 1, casos 17 y 24) aquellas inyecciones de DiI localizadas en la región medial del entopallio (A 10,0 y 9,00) generaron un conjunto de células retrógradamente marcadas que, por su localización y tamaño, correspondería a la región que ocupa DLP (Figura 26. Figura complementaria 26b; apéndice). Esto sugiere que las proyecciones desde Triangularis y DLP se organizan a nivel nidopalial compartiendo las coordenadas mediales y segregándose en el sentido anteroposterior (siendo la región terminal de DLP más posterior). Es decir, la proximidad de estos núcleos (Rt y DLP) se refleja, a nivel nidopalial, en la cercanía de sus respectivas regiones terminales.

3. Organización de los axones rotundales a nivel nidopalial:

En un plano sagital y a partir de pequeñas inyecciones de cristales de biocitina en rebanadas vitales de cerebro de pollo, realizamos una descripción de la trayectoria de algunos axones rotundales a través del entopallio.

Las inyecciones de biocitina en el plano sagital se situaron sistemáticamente en la región del globus pallidus, que es atravesado por el conjunto de axones rotundales que forman el *fascículo proscencefalicus lateralis* (FPL) (10 casos). El propósito de esto fue que parte del trazador fuera incorporado por axones del rotundus que atraviesan esta región y el estriado antes de llegar al nidopallio. En todos los casos el modo en que los axones rotundales invaden el entopallio, fue similar. Básicamente, cada uno de los axones observados sigue una trayectoria lineal a través del estriado, llegando al entopallio por el borde ventral de este núcleo, atravesando la lámina palio-

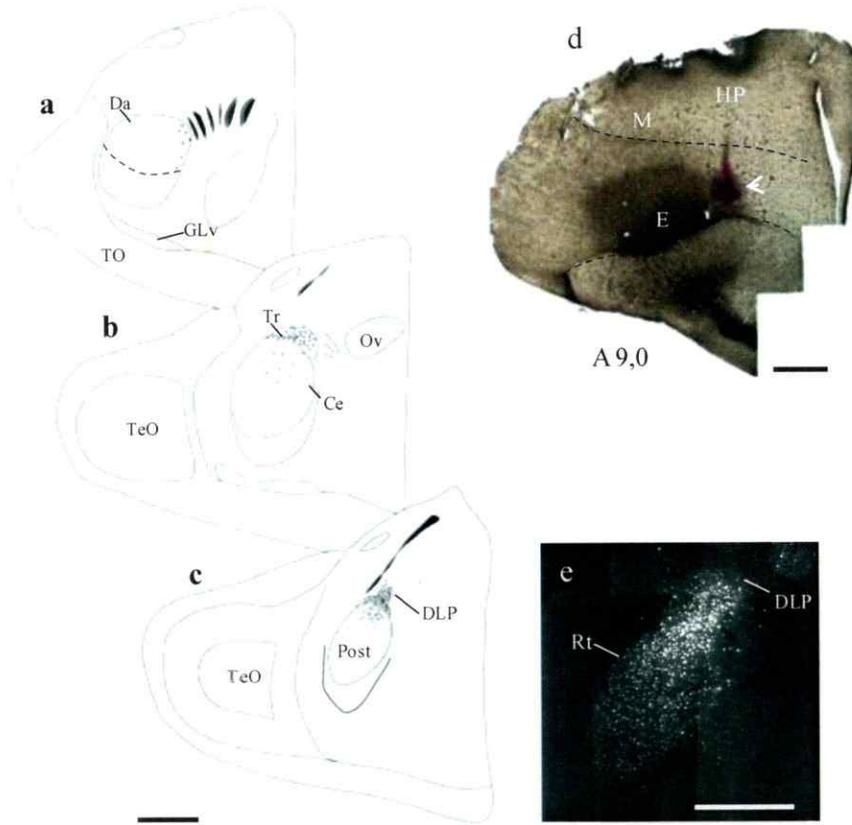


Figura 26

Región nidopial terminal de triangularis y DLP: (a)-(c): Diagrama de una serie rostro-caudal del tálamo de paloma, indicando el resultado una inyección de Dil en la región del entopalio (E) medial y central (cabeza flecha en **d**) (A 9,0). A nivel del rotundus, se encontraron neuronas retrógradamente marcadas en las subdivisiones triangularis (Tr) y posterior (Post). Además, el patrón de marca retrógrado incluyó la región ocupada por DLP (c). (e) es una composición digital de la sección diagramada en (c), mostrando un detalle de las células de DLP retrógradamente marcadas desde el sitio de inyección. Note que la subdivisión más anterior del núcleo rotundus (Da) no presenta marca retrograda, lo cual confirma la topografía rostro-caudal de esta proyección colotalámica. M: mesopalio; HP: hiperpalio. Barras de calibración: 1,0 mm.

subpalialis (Figura 27). Justo antes de entrar al entopalio, o inmediatamente después de hacerlo, cada axón se divide y da origen a dos ramas principales que siguen trayectorias opuestas y paralelas. Hemos observado además la existencia de axones que recorren el entopalio, ramificándose en la región medial-externa de este núcleo o dentro del nidopalio intermedio (Figura 28). La figura número 29, muestra la reconstrucción en cámara lúcida de un axón cuya bifurcación es dorsal dentro del entopalio, lo cual permite ejemplificar el caso de aquellas fibras que se dividen una vez que han recorrido aproximadamente la mitad del núcleo o incluso cerca del borde dorsal del mismo.

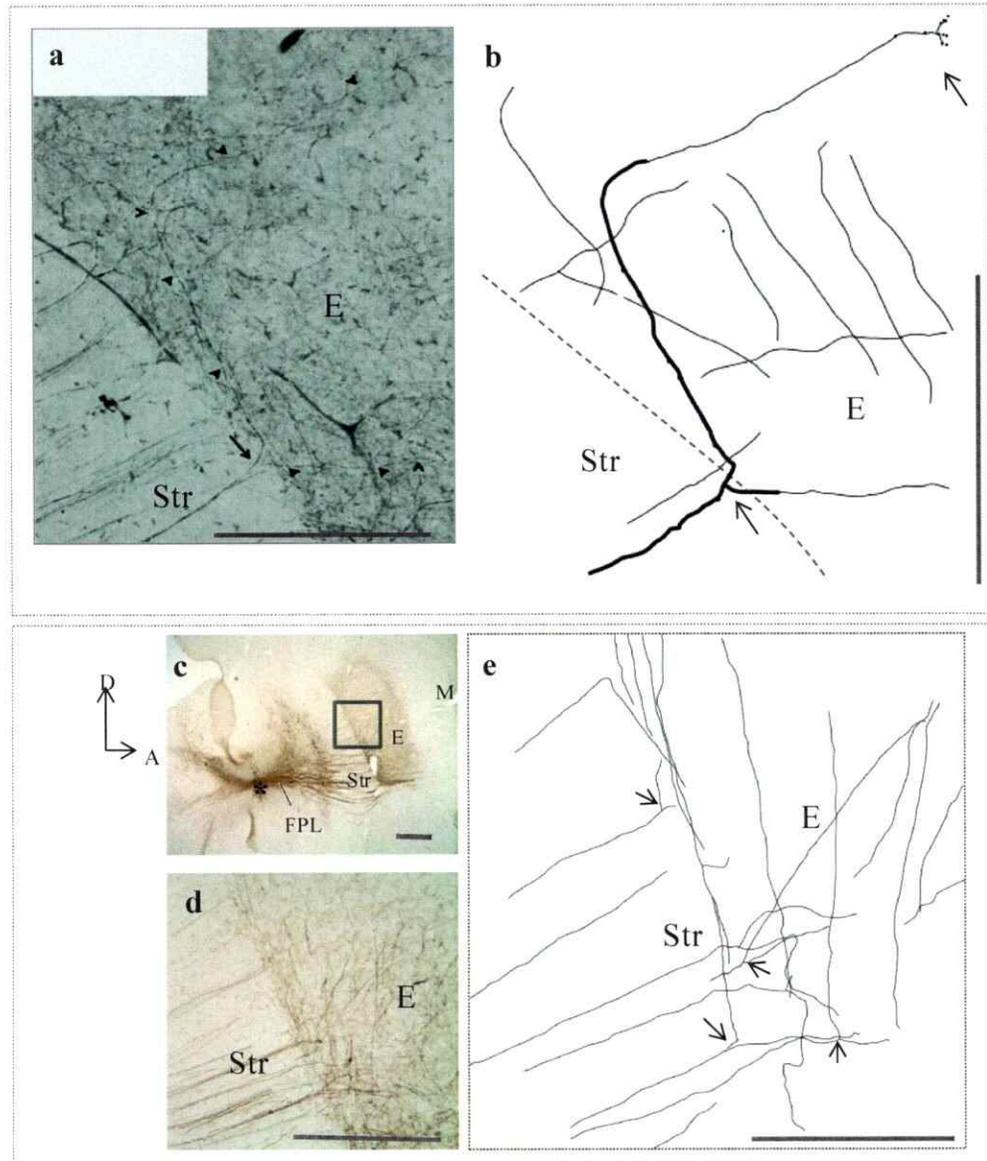


Figura 27

Organización de axones rotundales en el entopalio: (a): Imagen sagital mostrando el curso de un axón rotundal dentro del entopalio (cabezas de flecha) marcado luego de una pequeña inyección de biocitina en el subpalio. Luego de la bifurcación (región ventral) ambas ramas siguen trayectorias rostro-caudalmente divergentes. (b): Reconstrucción digital (CANVAS) de esta y otras fibras dentro del entopalio (E). Se indica el lugar (dorsal) en donde se observaron terminales asociados a una de las ramas de este axón rotundal. (c): Imagen sagital de una rebanada de pollo inyectada con biocitina sobre el FPL (asterisco), mostrando las estructuras telencefálicas comprometidas en esta inyección. (d) es un detalle del recuadro en (c) y muestra la bifurcación de algunos axones rotundales dentro del entopalio. En (e) se muestra la reconstrucción digital de algunas de estas fibras y su modo de bifurcación rostro-caudal (flechas). Barras de calibración: (a- b) y (d-e): 500 micrones; c: 1 mm.

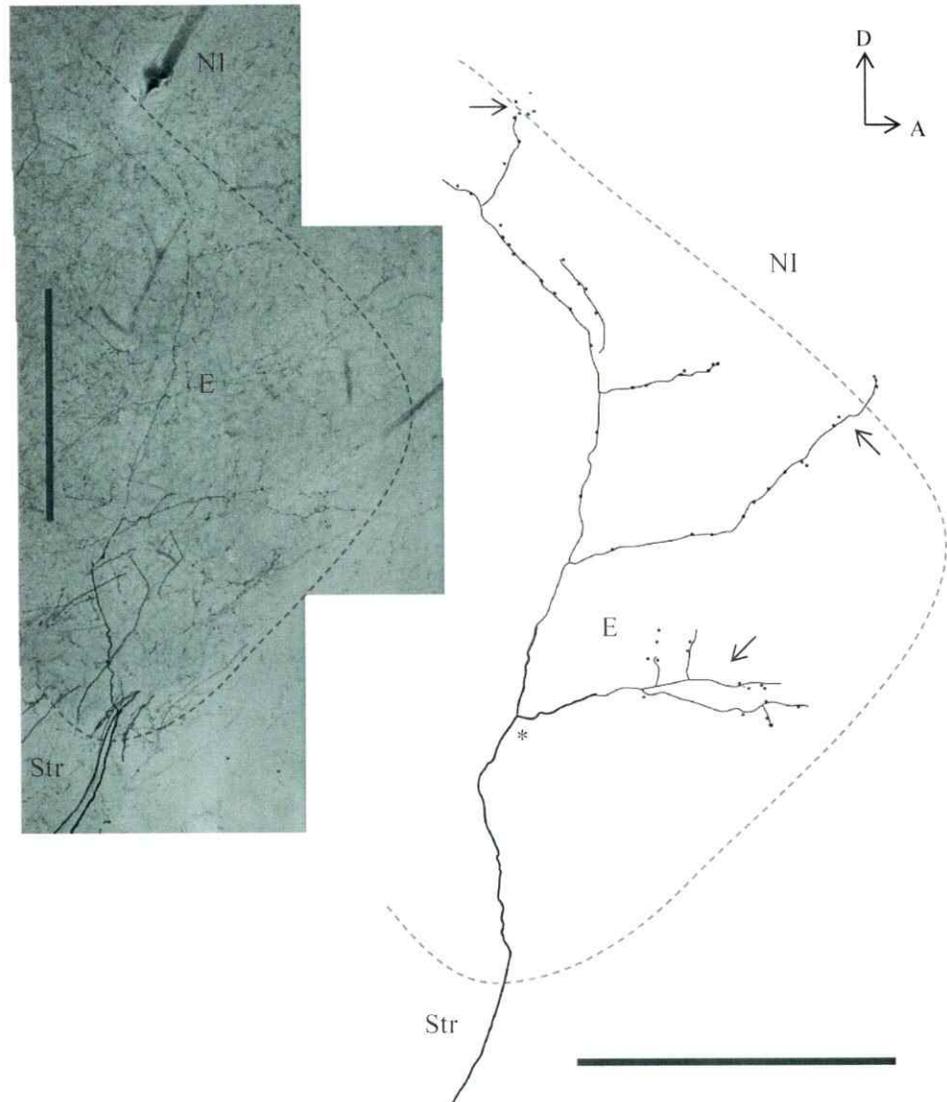


Figura 28

Organización de axones rotundales en el entopalio: (a) Imagen sagital de un axón rotundal marcado luego de una pequeña inyección de biocitina localizada en la zona del Pálido (no mostrado). Es posible distinguir la trayectoria de este axón, el cual entra por el borde ventral y anterior del entopalio (E) y se ramifica en más de un nivel dentro de este núcleo. (b) Reconstrucción digital (CANVAS) de esta fibra, destacando los sectores en que se observan granulosidades que corresponderían a sectores de terminales rotundales (flechas). Note que a partir del punto de bifurcación inicial (asterisco en b) las ramas resultantes se adelgazan progresivamente. Str: estriado, NI: nidopalio intermedio. Barra calibración: 500 micrones.

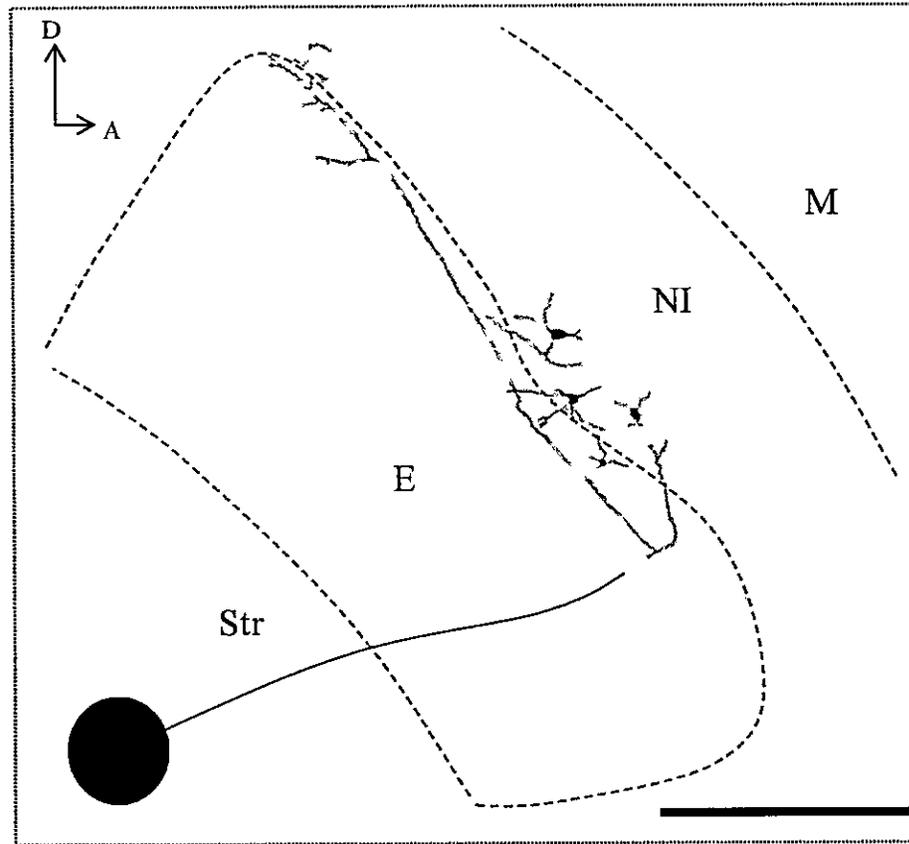


Figura 29

Organización de axones rotundales en el entopalio: Figura sagital de un axón rotundal reconstruido en cámara lúcida mostrando el curso seguido por esta fibra a través del entopalio (E) dorsal. Note que este axón alcanza la región límite (sugerido en líneas punteadas) entre el entopalio y el nidopalio intermedio (NI). El sitio de inyección (sugerido como un círculo relleno) se localizó en el subpalio, sobre las fibras rotundales en paso (FPL). Este caso corresponde a aquellos axones que sufren una bifurcación en la región más dorsal del entopalio. Adicionalmente se observan algunas células nidopaliales marcadas retrógradamente. Barra calibración: 1mm.

4. Organización modular y reciproca en el sistema Nidopalio/Mesopalio:

Estudiamos la organización del sistema nidopalio/mesopalio visual por medio del depósito manual de un trazador neuronal de alta sensibilidad (biocitina) en rebanadas vitales de cerebro de pollos. La mayoría de las rebanadas fue inyectada en más de un lugar. A través de inyecciones múltiples (dobles, triples o cuádruples) en más de 20 casos coronales, demostramos que las proyecciones ento-mesopaliales siguen un arreglo de tipo modular (“columnar”) cuyo eje de separación mayor está definido por la distancia entre los grupos de células entopaliales y mesopaliales comprometidas en cada módulo.

Para sistematizar el análisis de la organización de las proyecciones ento-mesopaliales, subdividimos conceptualmente el DVR visual en cuadrantes o sectores correspondientes a los distintos puntos de inyección, tanto en un plano coronal como sagital. Las figuras 34 y 35 muestran el modo en que se realizó esta sectorización (coronal y sagital), y permiten interpretar los resultados obtenidos, agrupados en las tablas 2-6. En cada una de estas tablas se indica el número de casos totales para cada sitio de inyección y a continuación el número de casos (respecto del total) en que se observaron terminales, células o ambos en las distintas regiones del DVR.

Tabla 3

Sitio inyección E	N° de casos	Mesopodio								Entopodio			
		MVM	MVLm	MVLI	MDM	MDLm	MDLI	MM	MMd	NI	VC	VL	
0 (M posterior)	13	-	-	-	-	-	-	-	8 TC / 5 T	3 C	-	-	-

Tabla 3: Resumen de inyecciones de biocitina en la región medial del entopodio/nidopodio posterior (ver figura 34). En los trece casos analizados se confirmó la presencia de celulas, terminales o ambos en el mesopodio medial (MM o MMd). En 8 de los 13 casos analizados se encontraron terminales y celulas en MM, mientras que en 5 de estos casos se encontraron solo terminales. En 3 casos de encontraron además, celulas en MMd.

Tabla 4

Sitio inyección M	N° de casos	Región terminal en entopodio/NI								Mesopodio					
		VM	VC	VL	DM	DC	DL	M	NI	MVM	MVLm	MVLI	MDM	MDLm	MDLI
MVM	5	2T	-	-	2TC/1C	-	-	-	-	-	-	-	4C	-	-
MVLm	5	-	3T	-	-	2TC/1T	-	-	-	-	-	-	-	3C	-

Tabla 4: Resumen de inyecciones de biocitina en el mesopodio ventro-medial (MVM) y mesopodio ventro-lateral (MVLm) en rebanadas coronales de cerebro de pollo. Se indican los sitios entopodiales en donde se confirmó la presencia de terminales mesopodiales (T) marcados anterogradamente, celulas (C) entopodiales marcadas retrógradamente o ambos (T/C). Además se indica la presencia de celulas mesopodiales marcadas retrógradamente en el mesopodio dorso-medial (MDM) y dorsal lateral medial (MDLm) (Figura 34).

Encontramos en la mayoría de las rebanadas inyectadas la presencia de un sistema de proyecciones recíprocas entre el entopalio y mesopalio, lo cual confirma los antecedentes respecto de este punto (Figuras 36, 38 y 39; Figura complementaria: 37). A partir del grueso de nuestros resultados, cuyos datos se agrupan en la tabla nº 2, podemos señalar que hemos determinado la existencia de un ordenamiento vertical (definido principalmente en el eje dorso-ventral) entre el sitio de inyección y la región terminal mesopalial asociada. Esto se puede ejemplificar considerando aquellas inyecciones situadas en la región dorso-medial (DM) del entopalio (n=19) (Figura 40a; Tabla 2; figura complementaria 40b apéndice). Mientras que en 17 de estos casos encontramos terminales y/o células distribuidos en el sector medial-ventral del mesopalio, en 12 casos encontramos terminales y/o células en la región medial-dorsal mesopalial. Es decir aquellos grupos de neuronas entopaliales ubicados en el sector dorso medial (DM) orientan sus axones verticalmente y terminan principalmente dentro del sector ventro-medial (MVM) y dorso-medial (MDM) del mesopalio.

En resumen confirmamos que cada sitio entopalial, definido por su posición medial-lateral, proyecta de manera preferente a una región específica del mesopalio con la cual está vertical o radialmente orientada (tabla 4; Figuras 41 y 42. Figura completaría: 43).

Por otro lado, en todos los casos analizados se observó terminales en la región del entopalio intermedio (tabla 2). Respecto de esto, no es posible definir si estos terminales corresponden a axones rotundales, entopaliales o ambos.

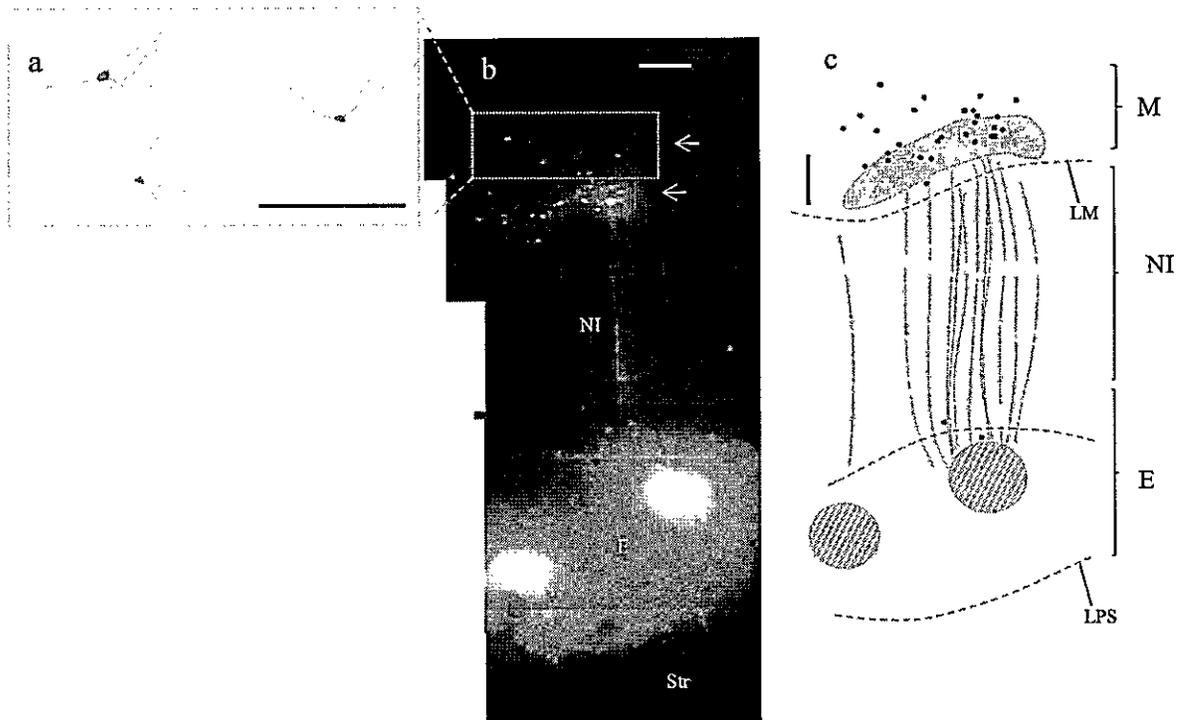


Figura 36

Proyección entopalio-mesopalio: Reconstrucción digital de imágenes de fluorescencia (b) mostrando el sitio entopalial de dos inyecciones de DiI, fibras ento-mesopaliales y una región terminal mesopalial sobre la lamina mesopalial. Dentro de este región terminal, es posible distinguir neuronas mesopaliales distribuidas en dos niveles dorso-ventralmente (flechas). La figura (c) corresponde a una composición digital (CANVAS) mostrando la disposición de los principales elementos que conforman la imagen (b), destacándose la orientación vertical (dorso-medial) de las fibras y posición de las células mesopaliales (círculos negros) marcadas retrógradamente. (a): representación de algunas células mesopaliales ubicadas en el recuadro punteado en (b); la arborización dendrítica de estas neuronas puede alcanzar los 300 micrones en su eje mayor. E: entopalio; NI: nidopalio intermedio; Str: estriado; LPS: lamina palio-subpalial. Barra calibración en (a), (b) y (c): 300 micrones.

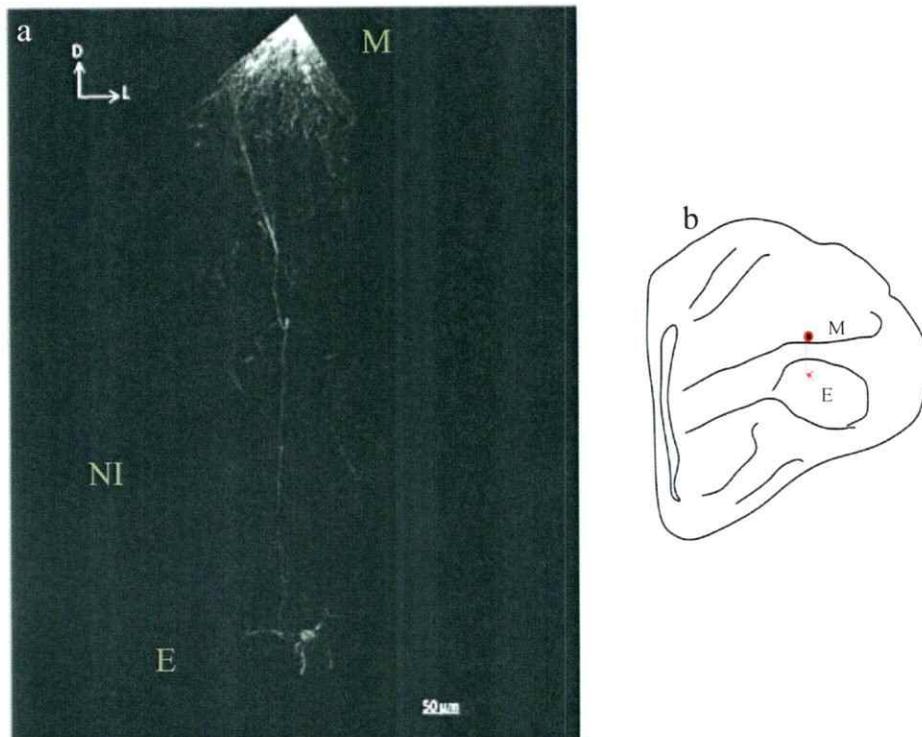


Figura 38

Neurona de proyección entopalial: Deposito manual de una pequeño cristal de DiI en el mesopalio (M): (a): Composición a partir de una proyección plana de imágenes confocales 3D, de una neurona localizada en la región dorsal del entopalio (E), retrógradamente marcada. Esta neurona corresponde al tipo descrito como “neurona de proyección entopalial” de morfología estelar, con 5 o 6 procesos dendríticos principales y espinas dendríticas homogéneamente distribuidas. (b) Se indica la posición aproximada del cristal y de la célula entopalial marcada retrógradamente. NI: nidopalio intermedio. Barra calibración: 50 micrones.

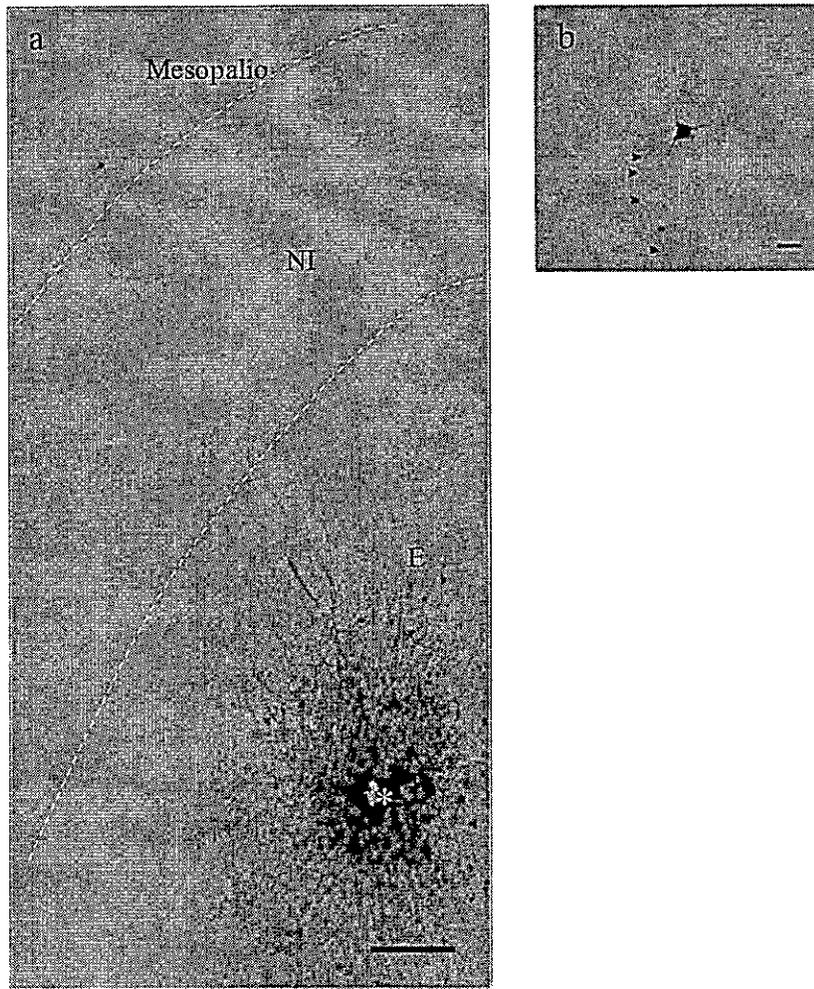


Figura 39

Neurona de proyección mesopallial :

(a): Se muestra el sitio de inyección (*) cercano al límite dorsal y medial del entopallio (E). Un conjunto de fibras que surgen desde aquí se orientan de manera radial. Se observa además una neurona mesopallial marcada retrógradamente y gran parte de su axón. (b): Detalle del soma y de la trayectoria descendente (cabezas de flecha) seguida por el axón de esta neurona mesopallial en ruta hacia el sitio inyectado, entopallio. Barras de calibración: a: 200 ; b: 20 micrones.

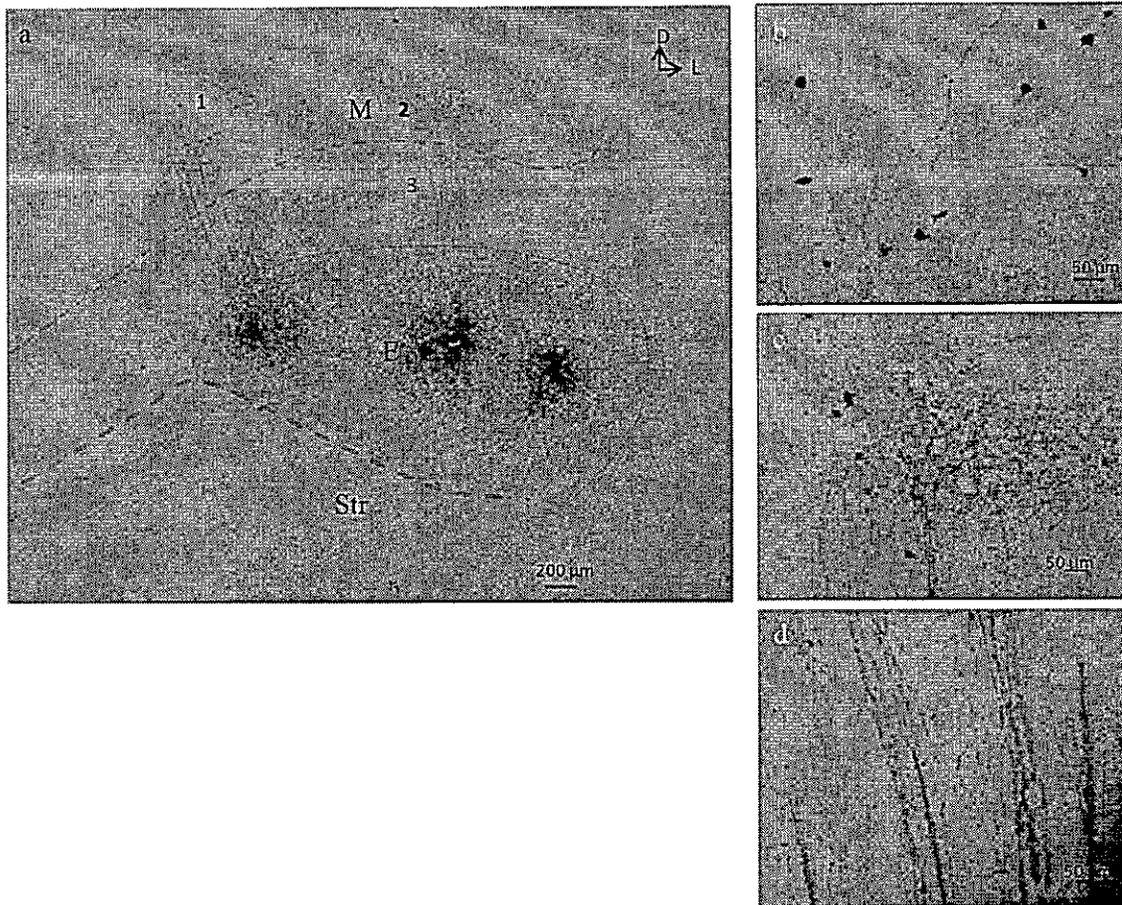


Figura 40 a

Organización de las proyecciones ento-mesopaliales: (a) Reconstrucción digital de una sección coronal de telencéfalo de pollo, mostrando el resultado del depósito de tres pequeños cristales de biocitina en la región central-dorsal del entopalio (E). Un sistema fibras (axones) dispuestos en un sentido ventro-dorsal conectan el entopalio con regiones discretas del mesopalio (M) ventral y lateral. (b): Celulas mesopaliales marcadas retrógradamente desde E formando parte de este arreglo de aspecto "columnar" (1 en a). (c): Región terminal en M (2 en a). Se identificó cada región terminal de acuerdo a la presencia de una región densa, de mayor granulosidad (presumiblemente botones sinápticos) y en la cual es posible distinguir pequeñas ramificaciones o segmentos terminales de axones. (d): Detalle de un tracto axonal que conecta ambas regiones (3 en a). Note que la inyección mas lateral no sostiene proyecciones reciprocas con el mesopalio. Las inyecciones ocuparon los sectores mas dorsales del entopalio (DM, DC y DL según figura 34) Barra de calibración: 200 en (a), 50 micrones en (b-d).

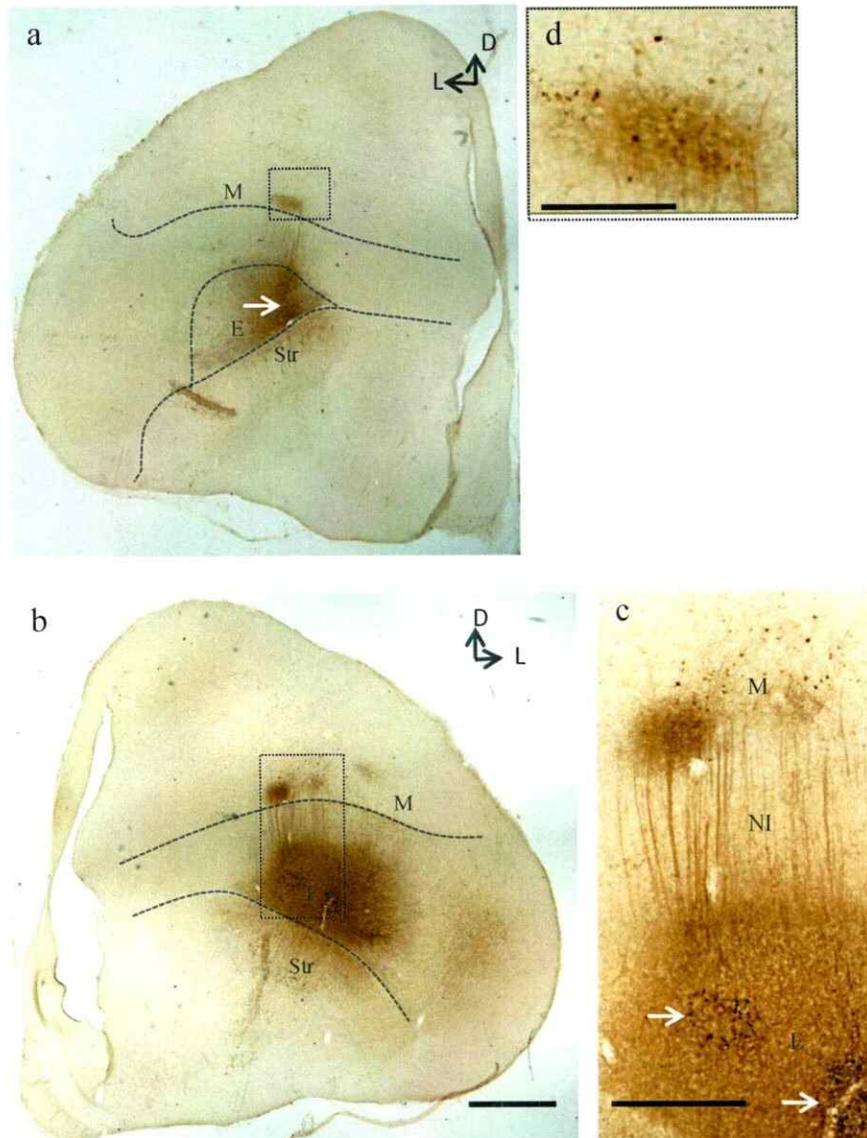


Figura 41

Organización de las proyecciones ento-mesopaliales : Composición de imágenes coronales de rebanadas de telencéfalo de pollo inyectadas una (**a**; flecha) o dos (**b**; flechas en **c**) veces en la región del entopallio (E). Se observan procesos (axones) dispuestos en un sentido ventro-dorsal que conectan los respectivos sitios de inyección con zonas discretas situadas en el mesopallio ventral y medial. En (**b**) es posible distinguir dos regiones mesopaliales terminales segregadas espacialmente. (**c**) y (**d**): Detalles de las zonas terminales indicadas en (**a**) y (**b**) (recuadros punteados). En (**c**) note que la separación entre las regiones terminales mesopaliales conservan la posición relativa de cada sitio de inyección entopallial. En ambos casos se distinguen células mesopaliales marcadas retrógradamente. Barras de calibración: A-B: 1mm; C-D:200 micrones.

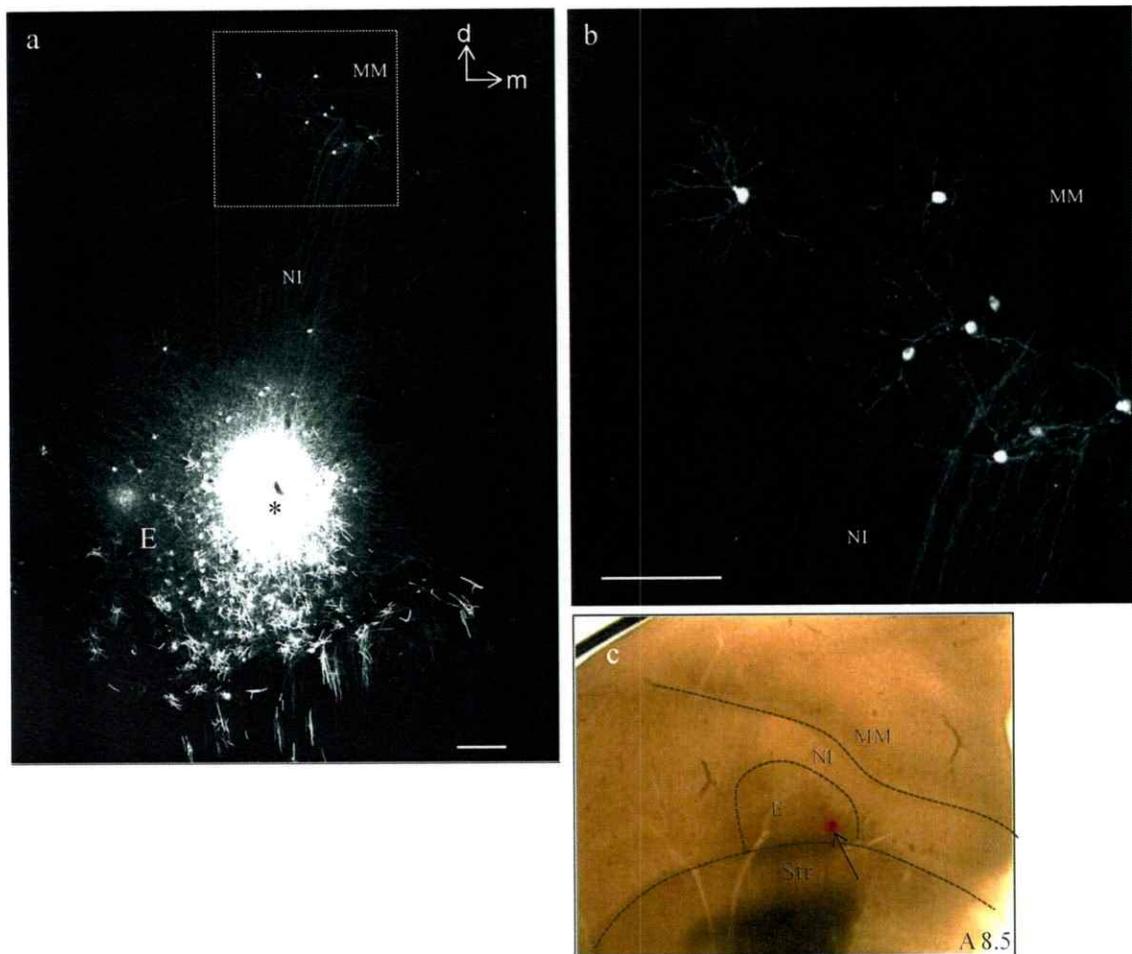


Figura 42

Organización de las proyecciones ento-mesopaliales: (a): Composición de imágenes confocales a partir de una rebanada de telencéfalo de pollo inyectada con Dil en la región caudo-medial del entopalio (E). Se puede observar el sitio de inyección (*) y un tracto de fibras que, pasando a través del nidopalio intermedio (NI), conecta esta zona entopalial con un sector discreto del mesopalio medial (MM). Se observa además un grupo de 8 neuronas mesopaliales retrógradamente marcadas. Note la disposición dorso-ventral de las fibras ento-mesopaliales. (b) es un detalle del recuadro indicado en (a) y muestra la morfología estelar de las neuronas mesopaliales ento-proyectantes. (d): visión de campo claro del la rebanada inyectada. Se puede observar el sitio de inyección del cristal de Dil en el sector caudo-medial (y ventral) del entopalio posterior (A 8.5) (punto rojo, flecha). NI: nidopalio intermedio; MM: mesopalio medial; Str: estriado. Barra de calibración a y b: 200 micrones

Además, a partir de inyecciones simples o múltiples en rebanadas sagitales hemos confirmado que este sistema de módulos o "columnas" ento-mesopaliales que se expande a través del coloplio sensorial siguiendo un arreglo topográfico rostro-caudal (Tablas 5 y 6; Figuras 44, 45 y 46). Cabe destacar que las evidencias derivadas de este tipo de inyecciones (sagitales) apoyan la idea de una subdivisión dorso-ventral del mesoplio entoplio-recipiente, siendo claro en algunos de estos casos la existencia de neuronas mesopaliales (entoplio-proyectantes) ubicadas en una zona más dorsal y menos densa en terminales entopaliales (Figura 46).

Además, el arreglo de conectividad recíproca y topográfica descrito parece ser exclusivo de la región del coloplio sensorial, dado que inyecciones más dorsales (cerca del borde dorsal del cerebro), mediales (en la zona del hiperplio) o posteriores (mesoplio posterior) no generan el tipo de patrón neuroanatómico descrito para el sistema ento-mesopaliale (Figuras complementarias: 47 y 48).

4.1. Caracterización de las células entopaliales:

A través de inyecciones de biocitina en rebanadas coronales y sagitales de cerebro de pollo, determinamos la posición de las células entopaliales que proyectan al mesoplio. En un plano coronal, hemos observado que grupos de neuronas entopaliales mesoplio-proyectantes se distribuyen a través del eje dorso-ventral entopaliale estratificándose dentro de los dos tercios más externos del entoplio. Cabe destacar que estos "módulos" entopaliales (de aproximadamente 400 micrones de extensión medial-lateral) están espacialmente alineados con la distribución dorso-ventral de las aferencias rotundas (Figuras 49a, b y c). Estas características, sumadas a las evidencias derivadas de inyecciones en un plano sagital, que revelan la extensión rostro-caudal de esta organización "modular" del sistema entoplio/mesoplio, hacen equivalente la

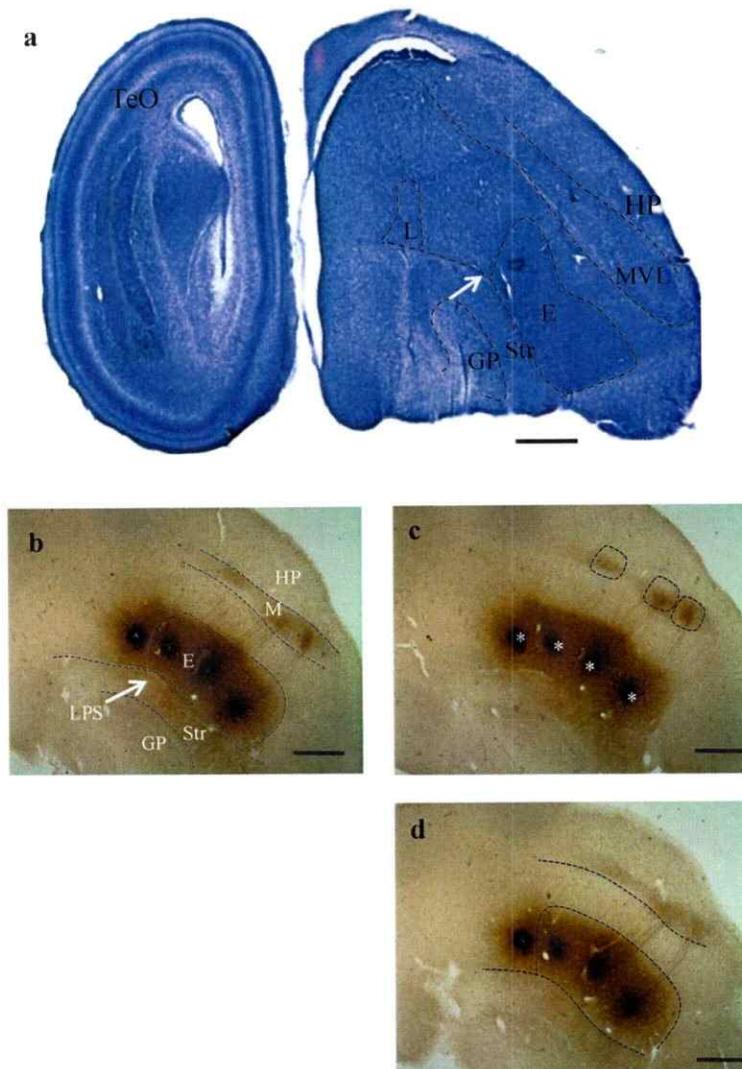


Figura 44

Topografía rostro-caudal de la proyección entopalio-mesopalio: En (a) se muestra una sección sagital de cerebro de pollo teñida con Nissl. Se indican las principales estructuras telencefálicas. (b-d): serie medio-lateral de cerebro de pollo mostrando el resultado de un depósito múltiple de biocitina a través del nidopalio, incluidos distintos niveles rostro-caudales entopaliales (E). Este resultado sugiere la existencia de un sistema de proyecciones ento-mesopaliales expandido longitudinalmente. La inflexión en la lamina palio-subpalial (LPS) define el límite posterior del entopalio (flechas en a y b). Note que la inyección mas posterior no participa del sistema de proyecciones mas anterior. Barra de calibración: 1 mm.

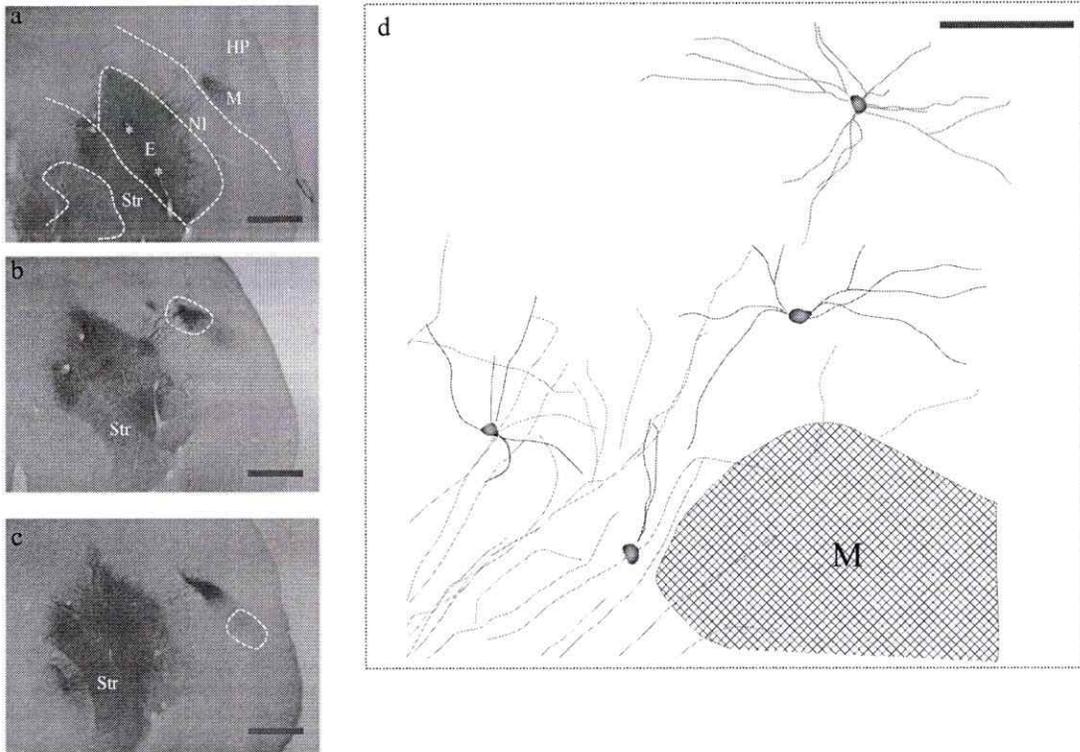


Figura 45

Topografía rostro-caudal sistema entopalio-mesopalio: (a)–(c) : Serie medio-lateral, mostrando el resultado de dos inyecciones de biocitina en el entopalio (E) (asteriscos). A nivel mesopalial, se observan dos regiones terminales segregadas rostro-caudalmente (recuadros punteados en b y c). La separación de estas regiones terminales mesopaliales confirma la existencia de un arreglo entomesopalial rostro-caudalmente ordenado (topográfico). En (d) se presenta una composición digital de este caso, indicando la zona más densa en terminales entopaliales (región achurada) y neuronas mesopaliales retrógradamente marcadas. Note la presencia de neuronas mesopaliales en la una zona más dorsal al sector terminal principal.

Barra de calibración: (a-c): 1 mm; (d): 100 micrones.



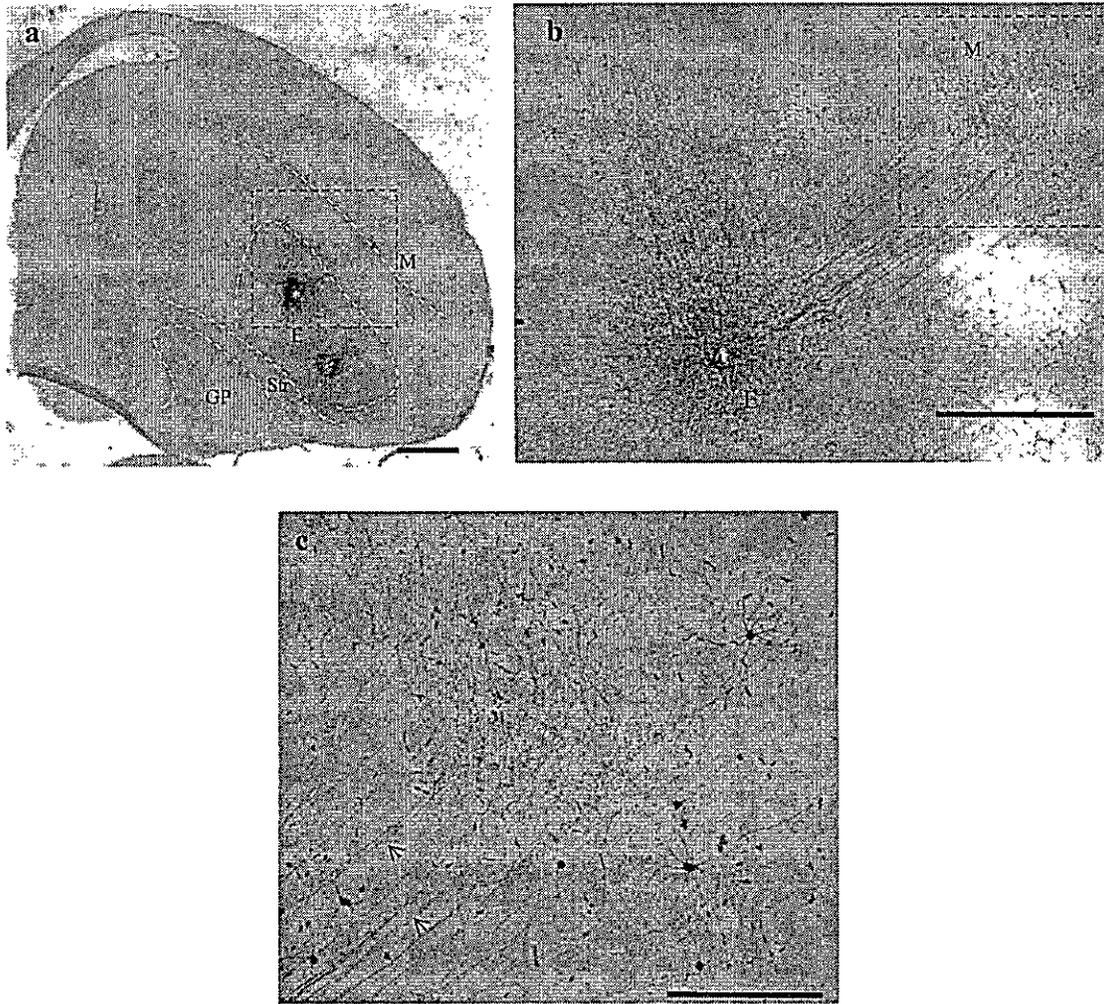


Figura 46

Columna sagital entopalio-mesopalio: En (a) se muestra la imagen de una inyección doble de biocitina en el entopalio (E), en una rebanada sagital de cerebro de pollo. La inyección mas posterior (asterisco) muestra un sistema de fibras que surge desde el sitio de inyección y define una región terminal discreta en el mesopalio (M) dorsal y adyacente (b, recuadro en a). En (c) se muestra un detalle de la región terminal mesopalial. Es posible distinguir que los axones entopaliales siguen una trayectoria lineal hasta el borde ventral del mesopalio donde se ramifican dando origen a un zona densa en terminales. Además, se observan neuronas mesopaliales retrógradamente marcadas en dos niveles mesopaliales, dorso-ventralmente segregados. Barra de calibración: (a-b): 1 mm; (c): 300 micrones.

organización del sistema ento-mesopial con aquel descrito en el caso del DVR auditivo (Field L/CM).

Caracterizamos parte de la morfología de las células entopaliales que forman los “módulos” de conectividad recíproca con el mesopalio a través del llenado de neuronas individuales utilizando para esto un trazador de alta sensibilidad (biocitina conjugada con rodamina). A través de esta técnica, determinamos que el tamaño del soma de estas unidades entopaliales mesopalio-proyectantes oscila entre los 15-20 micrones (promedio: $15,5 \pm 2,7$; $n= 50$) con un diámetro promedio de arborizaciones dendríticas que en torno a los 170 micrones. Además, estas neuronas se caracterizan por presentar una morfología estelar y poseer entre 5 y 7 procesos principales con abundantes espinas dendríticas homogéneamente distribuidas. Cada dendrita se ramifica una o dos veces (Figura 50).

Por otro lado, los axones entopaliales se dirigen al mesopalio en una trayectoria vertical (eje dorso-ventral) sin colateralizar en la región del nidopalio intermedio. Hemos observado que el grueso de los axones entopaliales terminan en la región más ventral mesopial (de aproximadamente 350 micrones de espesor) y que algunos de estos (o sus colaterales) lo hacen en una zona más dorsal del mesopalio (Figura 51).

En el caso de las células mesopaliales que proyectan al entopalio, estas exhiben una morfología estelar con un diámetro de soma algo mayor que aquellas entopaliales (promedio: $19,8 \pm 2,4$; $n= 40$) y una expansión dendrítica que alcanza los 200 micrones de diámetro (promedio: $244,6 \pm 18,5$; $n= 35$), pudiendo llegar hasta los 300 micrones (Figura 52). La distribución de las células mesopaliales entopalio-proyectantes, se determinó principalmente a través de las inyecciones de biocitina en distintos puntos del entopalio y por lo tanto como el resultado de un patrón de marca retrogrado. Estos

resultados muestran que las neuronas mesopaliales que proyectan al entopalio están distribuidas en distintos niveles dorso-ventrales. Esto, además de la diferencia en la densidad de terminales entopaliales entre la zona ventral y dorsal del mesopalio, sugiere la existencia de dos niveles mesopaliales comunicados con el entopalio, segregados dorso-ventralmente (Figura 53 y 54 a. Figura complementaria: 54b).

Por otro lado, hemos observado que los axones mesopaliales que invaden el entopalio dejan colaterales en más de un nivel nido-entopalial, incluida la región del nidopalio intermedio (Figuras 55 y 56). Destacamos este resultado puesto que incorpora a parte del nidopalio intermedio como participante de un circuito recurrente ento-mesopalial.

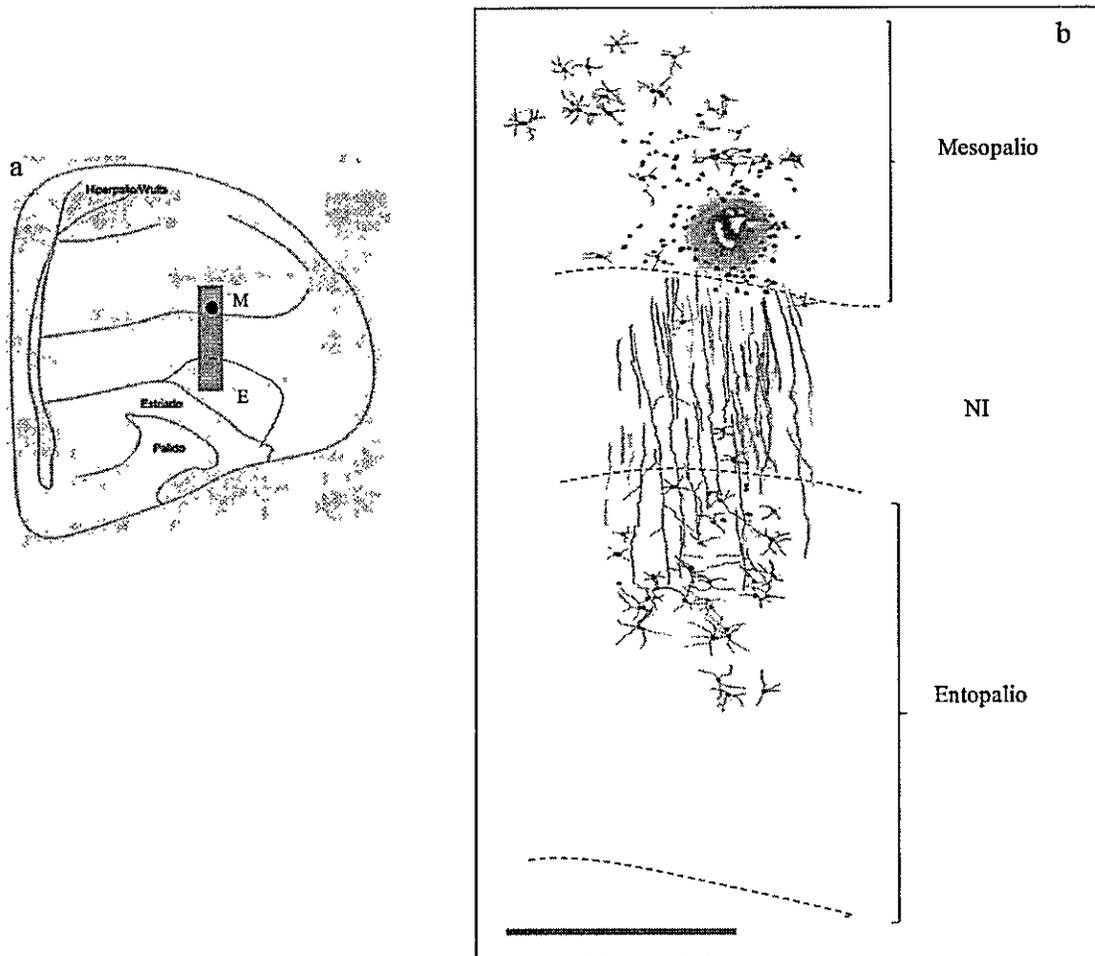


Figura 49a

Conectividad mesopallio-entopallio: (a) Diagrama coronal del telencéfalo de pollo, indicando el sitio de inyección de un pequeño cristal de biocitina (mesopallio ventral) y la región donde se encontraron terminales y células marcadas retrógradamente (entopallio central-dorsal). (b) reconstrucción en camarada lucida de fibras y neuronas que conectan el sitio de inyección con el entopallio. Los procesos que comunican ambas regiones siguen un arreglo radial, en el sentido dorso-ventral del cerebro. Note que las células entopalliales mesopallio-proyectantes se encuentran dentro de un "módulo" extendido dorso-ventralmente y restringido medio-lateralmente. Barra calibración: 400 micrones

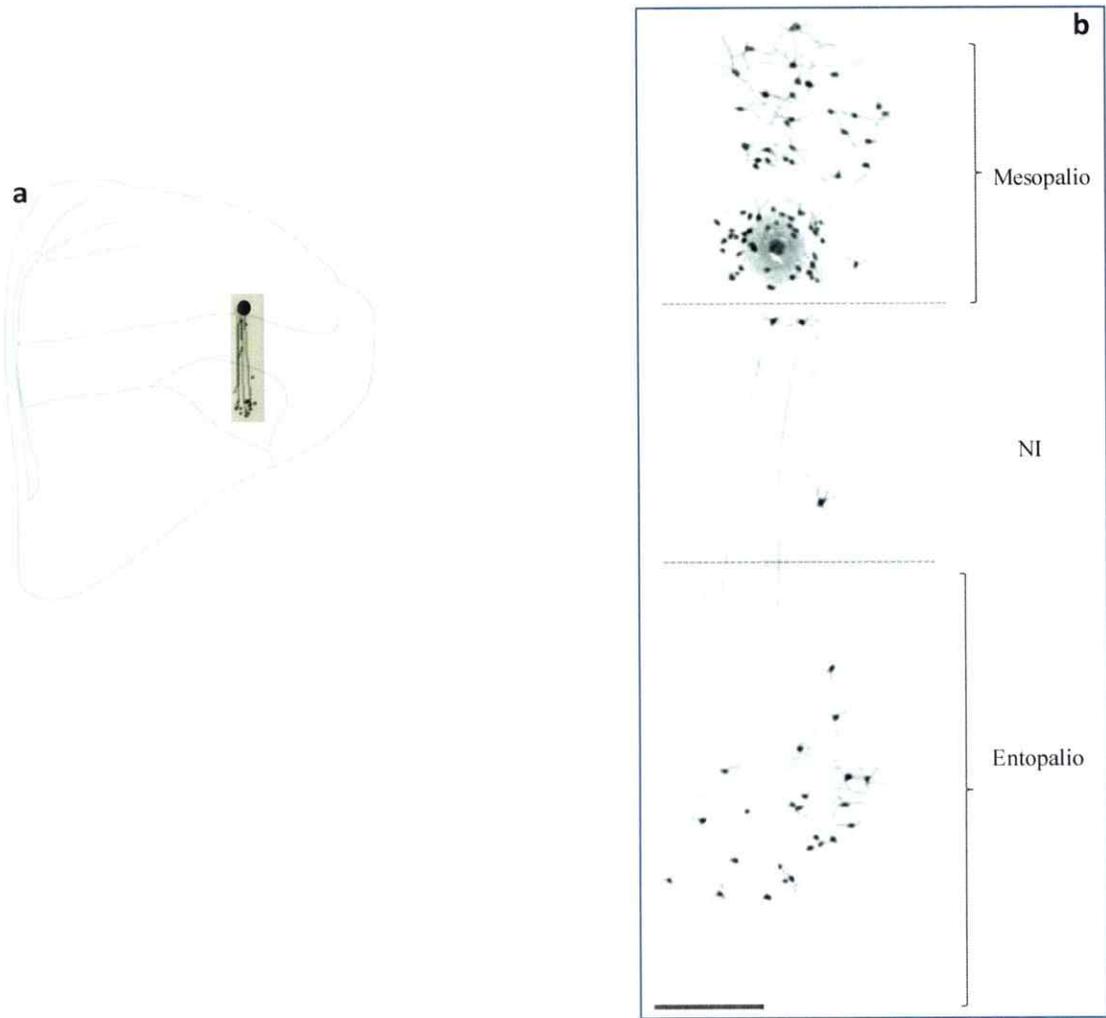


Figura 49b

Conectividad mesopallio-entopallio: Reconstrucción en camarada lucida de fibras y neuronas que conectan el sitio de inyección de un pequeño cristal de biocitina (a) con el entopallio. Los procesos que comunican ambas regiones siguen un arreglo radial, en el sentido dorso-ventral del cerebro. Las células entopalliales mesopallio-proyectantes se encuentran restringidas en un sector dorsal del entopallio. Calibración: 200 micrones

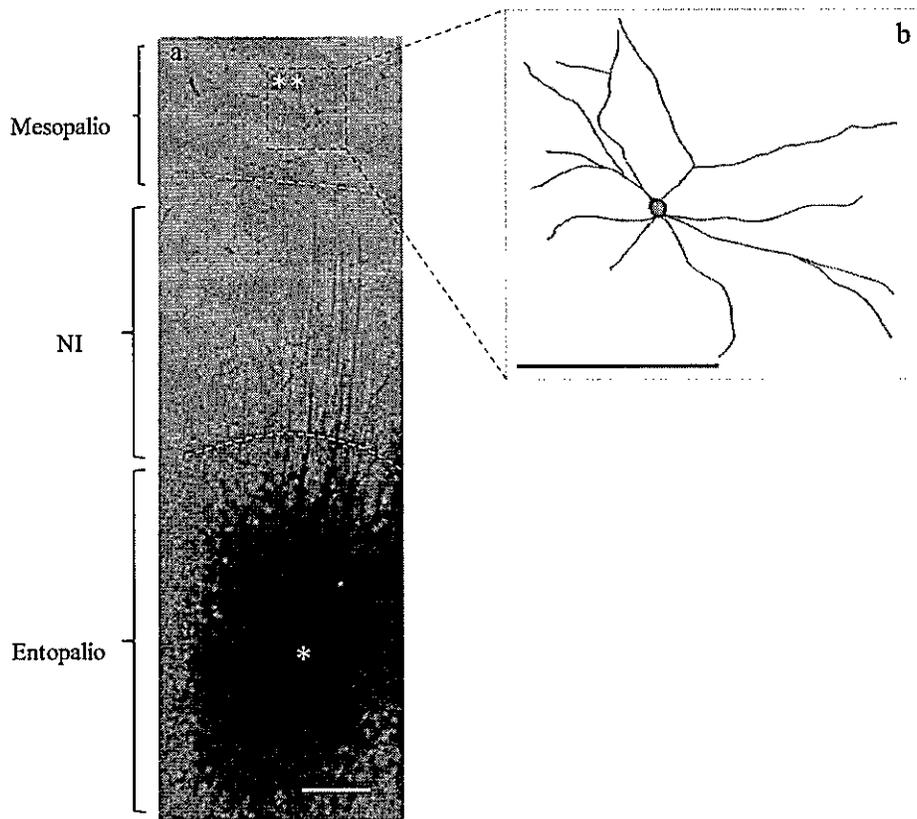


Figura 53

Neurona mesopallial de proyección: La imagen (a) muestra una inyección de biocitina en una rebanada coronal de telencéfalo de pollo (*). Múltiples fibras surgen desde el sitio de inyección ascendiendo y/o descendiendo hacia o desde el mesopallio (**). En particular el recuadro punteado destaca la presencia de una neurona mesopallial retrógradamente marcada, cuyas características morfológicas generales se indican en el esquema (b). Como lo sugiere este caso, las células mesopalliales que sostienen proyecciones recíprocas con el entopallio poseen una arborización dendrítica que en su diámetro mayor puede alcanzar los 300 micrones. El diagrama (b) se obtuvo dibujando digitalmente esta célula sobre la imagen original (Programa CANVAS). Barra calibración: (a) y (b): 300/150 micrones respectivamente.

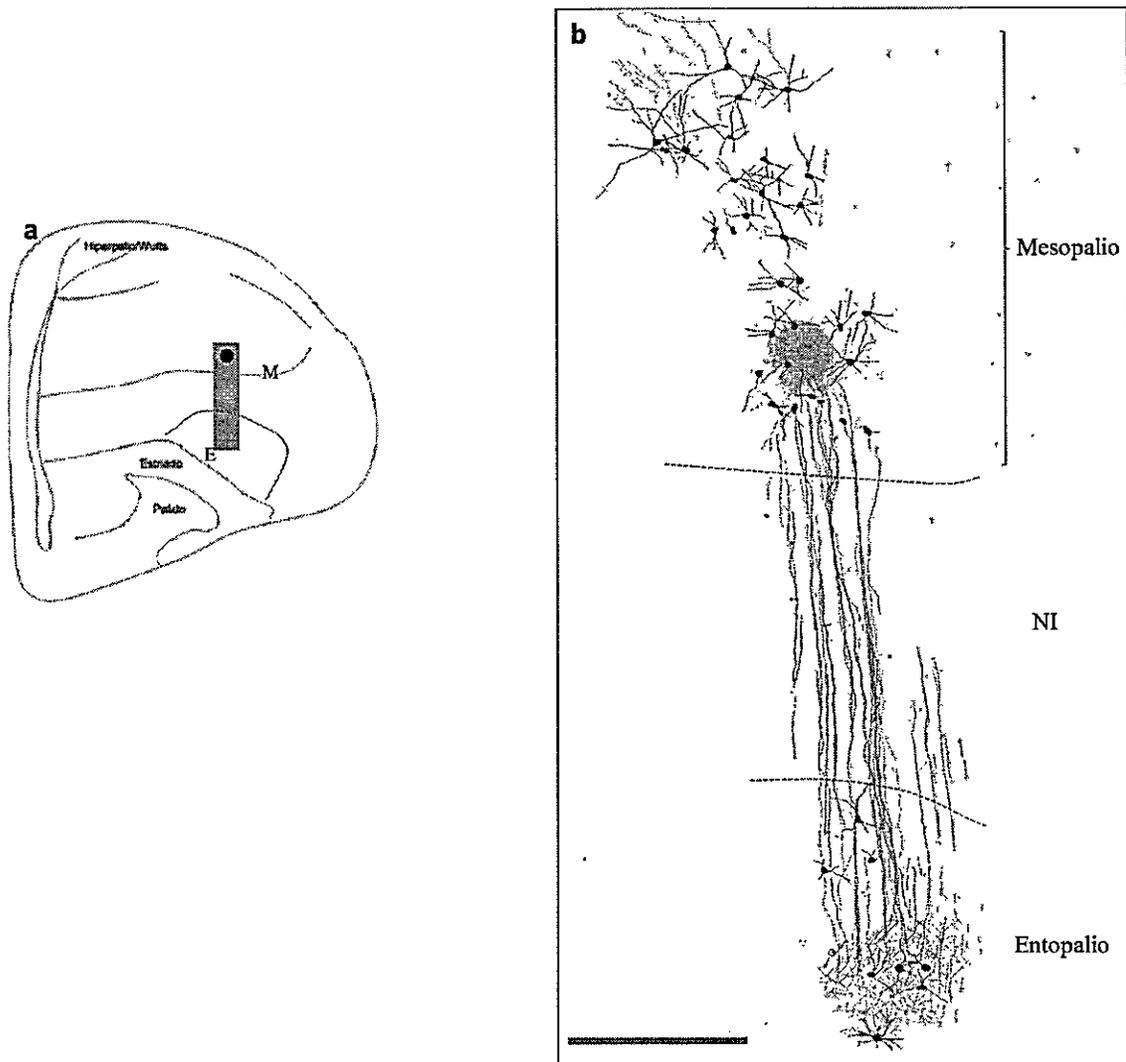


Figura 49c

Conectividad mesopallio-entopallio: (a) Inyección de biocitina en el entopallio central-dorsal. (b) reconstrucción en camarada lucida de fibras y neuronas que conectan el sitio de inyección con el entopallio. En este tipo de inyecciones aparece sistemáticamente un grupo de neuronas mesopaliales localizadas en un nivel mas dorsal (respecto del sitio de inyección) y que se presume proyectarían al entopallio desde aquel segundo nivel mesopallial. Barra calibración: 400 micrones.

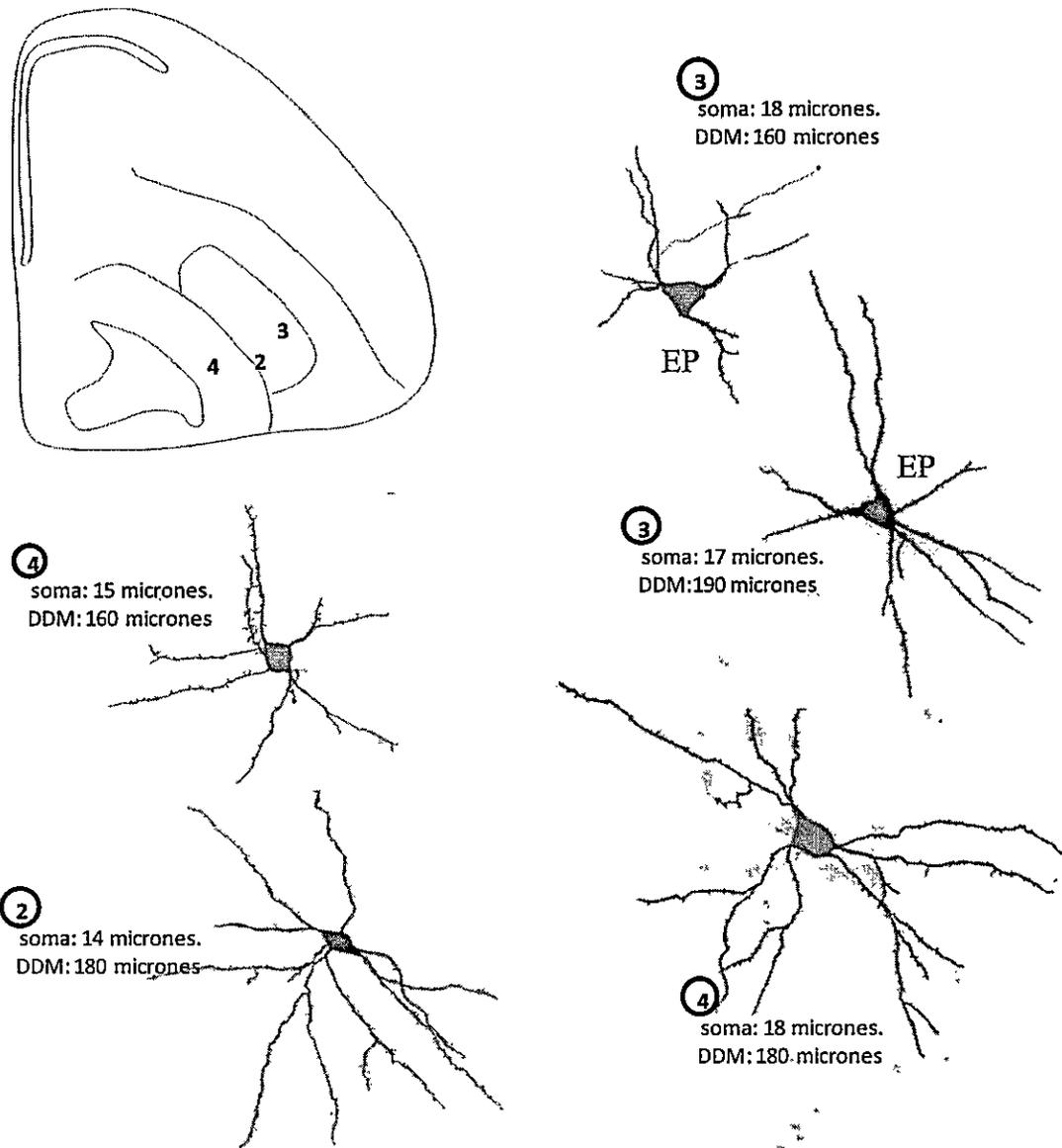


Figura 50

Morfología de neuronas entopaliales: reconstrucción en cámara lúcida de algunos tipos de neuronas entopaliales, nidopaliales y estriatales, llenadas intracelularmente con biocitina-rodamina. La posición en que se localizó cada célula es indicada con un número en el esquema coronal y sagital, respectivamente. Además se indica el diámetro mayor del soma y de la arborización dendrítica (DDM) de cada célula. Las neuronas del entopallio que participan en el arreglo recíproco y "modular" ento-mesopallial (número 3), poseen una morfología estelar, con 5-7 dendritas principales y espinas dendríticas homogéneamente distribuidas. Otro tipo de neuronas entopaliales, como aquellas localizadas en la región ventral de este núcleo (número 2) tienen una arborización dendrítica mas polarizada (alcanzando una mayor extensión).

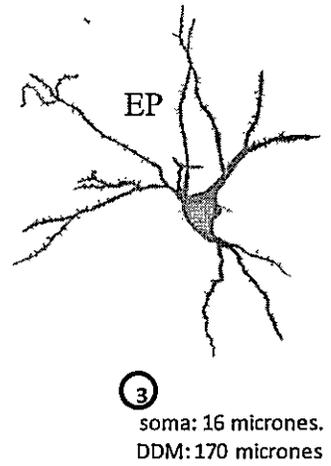
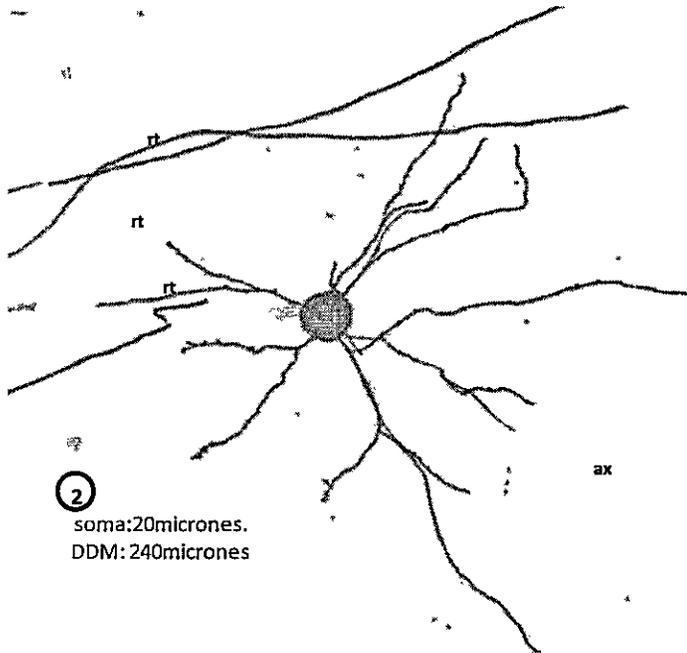
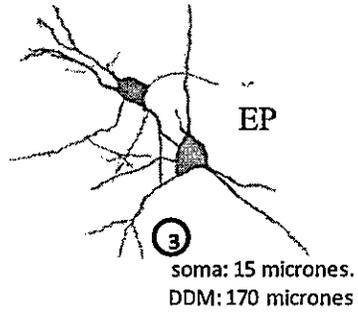
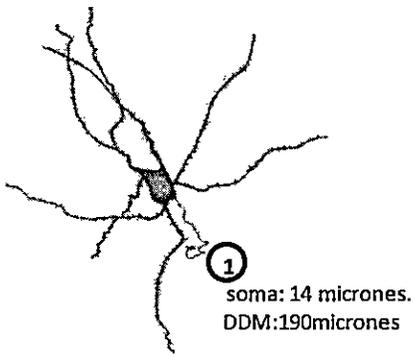
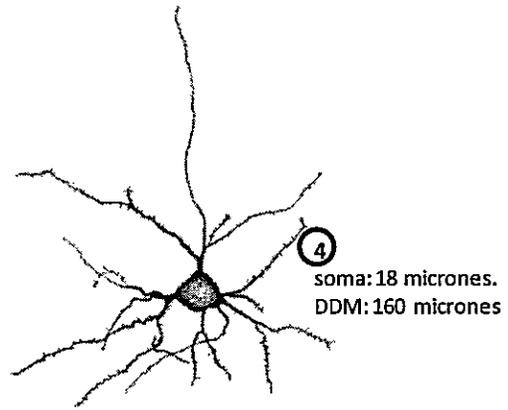
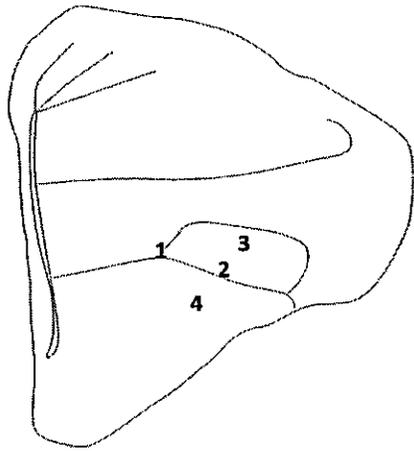


Figura 50 continuación

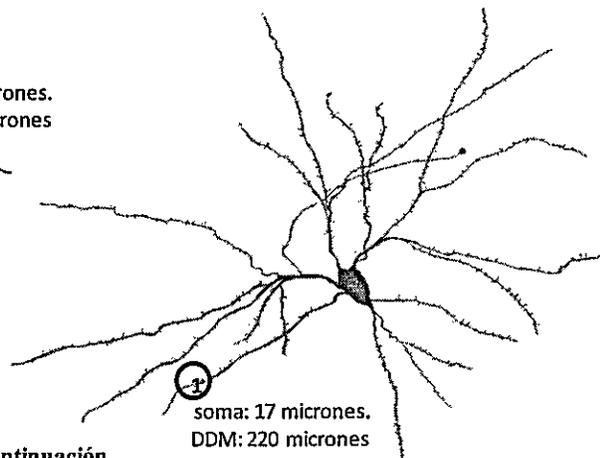
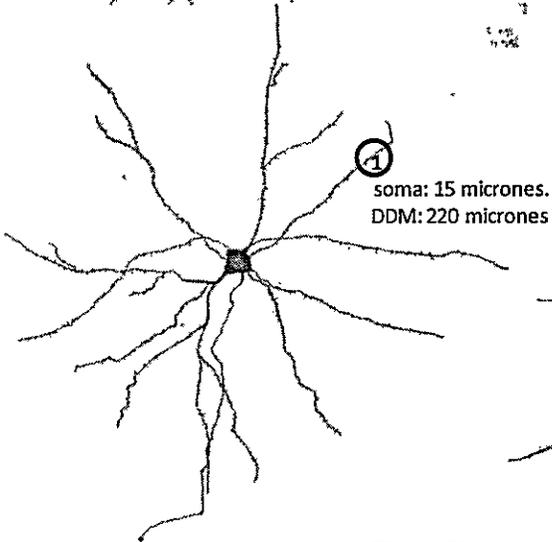
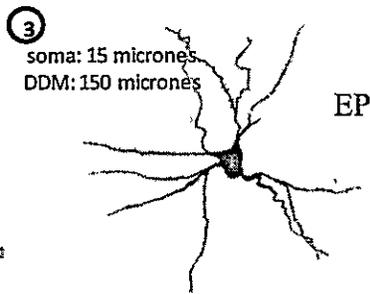
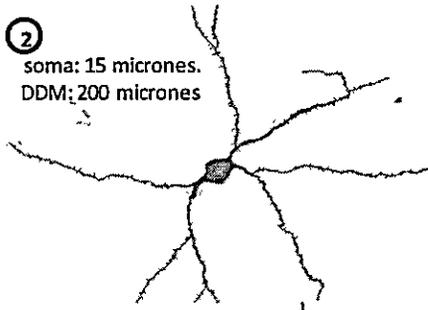
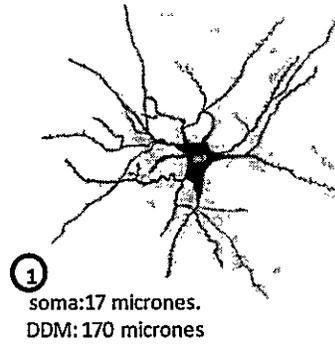
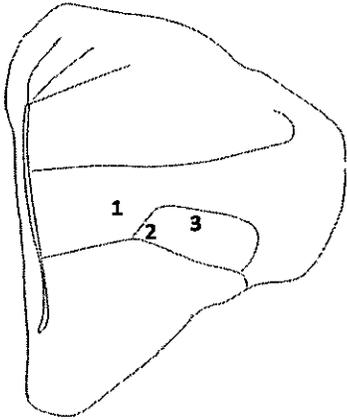


Figura 50 continuación

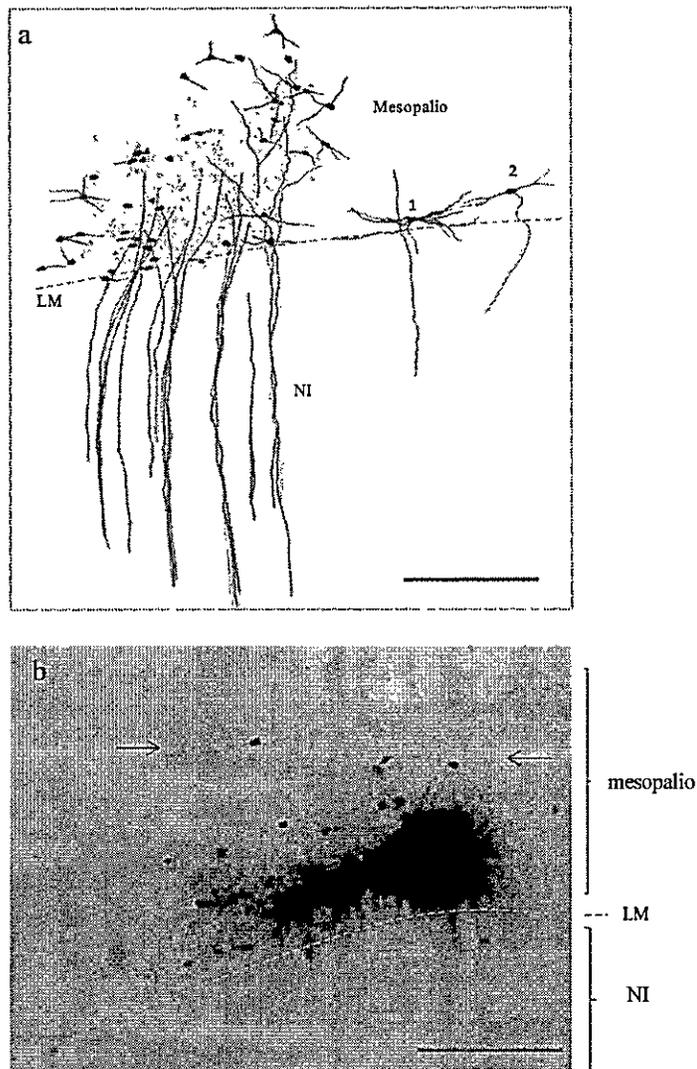


Figura 51

Región terminal en mesopallio: (a) y (b) dos casos que ejemplifican la organización del mesopallio que sostiene proyecciones recíprocas con el entopallio. (a) Reconstrucción de cámara lúcida a partir de una pequeña inyección de biocitina (no se muestra) en el entopallio. Se observa la disposición de fibras entopaliales que proyectan y definen un sector de terminales en el mesopallio ventral. Se observan además neuronas mesopaliales retrógradamente marcadas distribuidas ventro-dorsalmente. (b): Composición digital a partir de una rebanada coronal inyectada con Dil en el entopallio (no se muestra) (colores invertidos). En ambos casos la zona de mayor densidad de terminales entopaliales es la región ventral del mesopallio. La región más dorsal se caracteriza por recibir una proyección minoritaria desde el entopallio y por la presencia de neuronas de gran tamaño cuya arborización dendrítica puede alcanzar los 300 micrones (flechas). Note además en (a, 1 y 2) dos neuronas mesopaliales que poseen un árbol dendrítico polarizado, paralelo a la lamina mesopallial. M: mesopallio; NI: nidopallio intermedio; LM: lamina mesopallial. Barra calibración: 300 micrones.

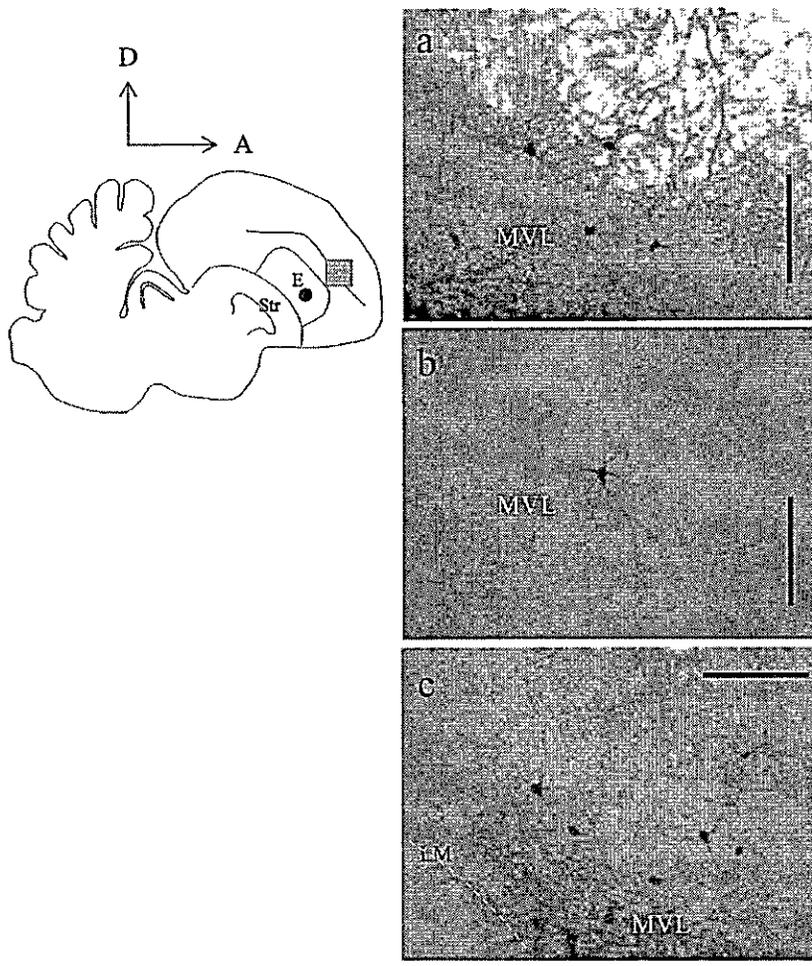


Figura 52

Región mesopial terminal y células entopialo-proyectantes: El esquema sagital de la derecha muestra el sitio de inyección en el entopialio (E) (círculo gris) y la zona mesopial en donde existe una concentración de terminales entopiales, inmediatamente sobre la lamina mesopial (LM en c). (a) -- (c): Serie medio lateral sagital mostrando la presencia de neuronas mesopiales marcadas retrógradamente desde el sitio de inyección. En (b) es posible apreciar el gran tamaño de algunas de estas células. Barra calibración: 150 micrones.

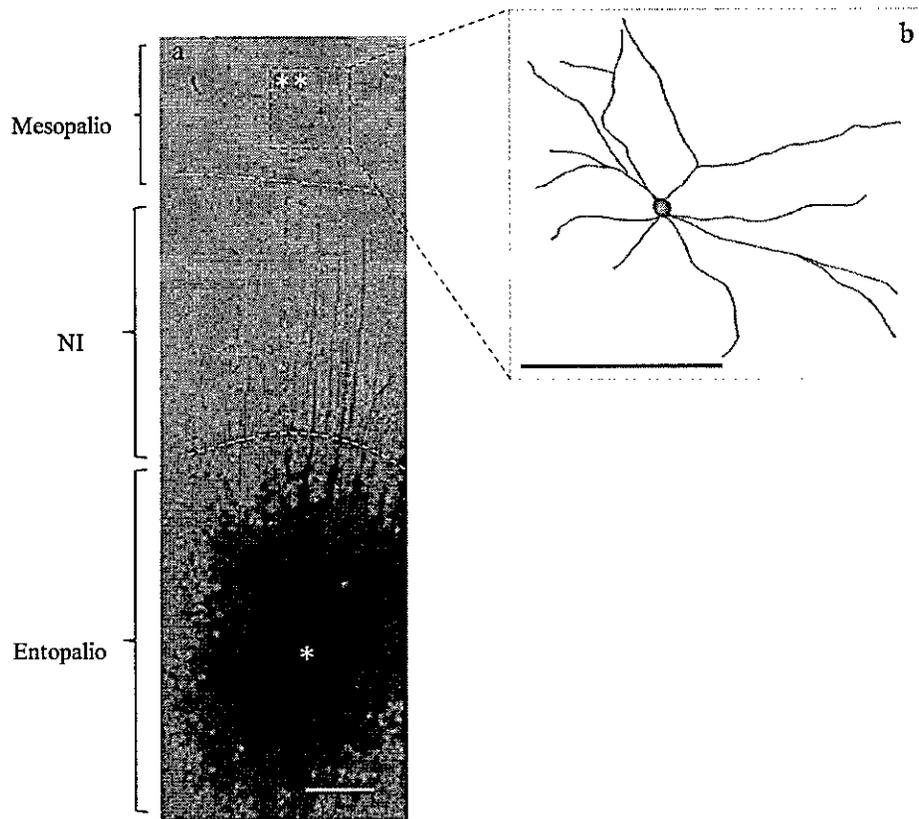


Figura 53

Neurona mesopallial de proyección: La imagen (a) muestra una inyección de biocitina en una rebanada coronal de telencéfalo de pollo (*). Múltiples fibras surgen desde el sitio de inyección ascendiendo y/o descendiendo hacia o desde el mesopallio (**). En particular el recuadro punteado destaca la presencia de una neurona mesopallial retrógradamente marcada, cuyas características morfológicas generales se indican en el esquema (b). Como lo sugiere este caso, las células mesopalliales que sostienen proyecciones recíprocas con el entopallio poseen una arborización dendrítica que en su diámetro mayor puede alcanzar los 300 micrones. El diagrama (b) se obtuvo dibujando digitalmente esta célula sobre la imagen original (Programa CANVAS). Barra calibración: (a) y (b): 300/150 micrones respectivamente.

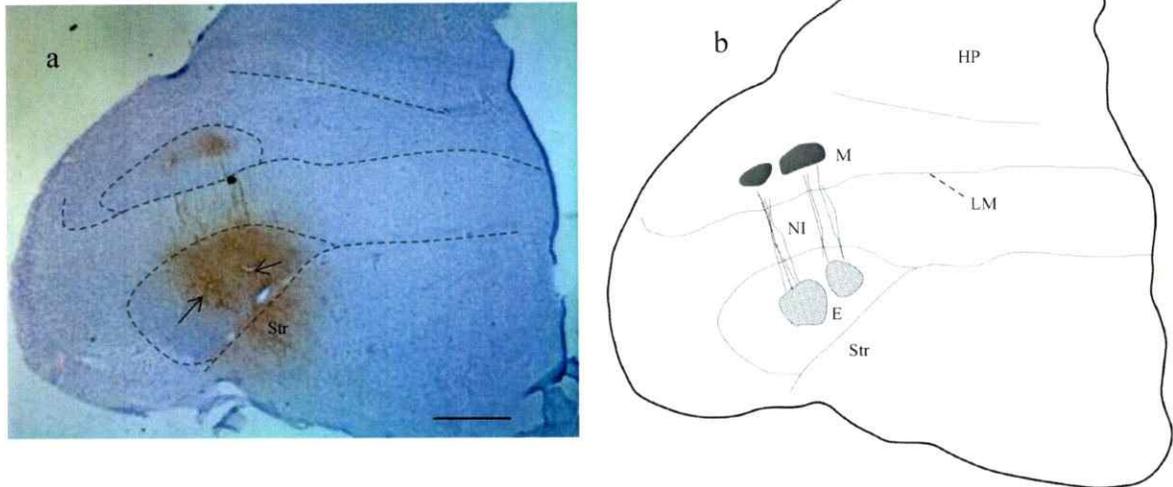


Figura 54 a

Doble inyección de biocitina en el entopallio: la figura (a) muestra dos inyecciones de biocitina en la región central del entopallio (E) y las respectivas regiones terminales en el mesopallio (M). La rebanada fue contra teñida con tinción de Nissl. La figura (b) es un esquema de (a) destacando la extensión de las regiones terminales mesopaliales. Note que la posición de estas regiones es mas dorsal, respecto de la lamina mesopaliaal. Esto se puede deber a que el ángulo de corte del cerebro fue levemente inclinado respecto de la posición normal. De otro modo, este resultado puede reflejar la existencia de una región terminal mas dorsal para los axones entopaliales.

HP: hiperpallio; M: mesopallio; NI: nidopallio intermedio. Barra calibración: 900 micrones.

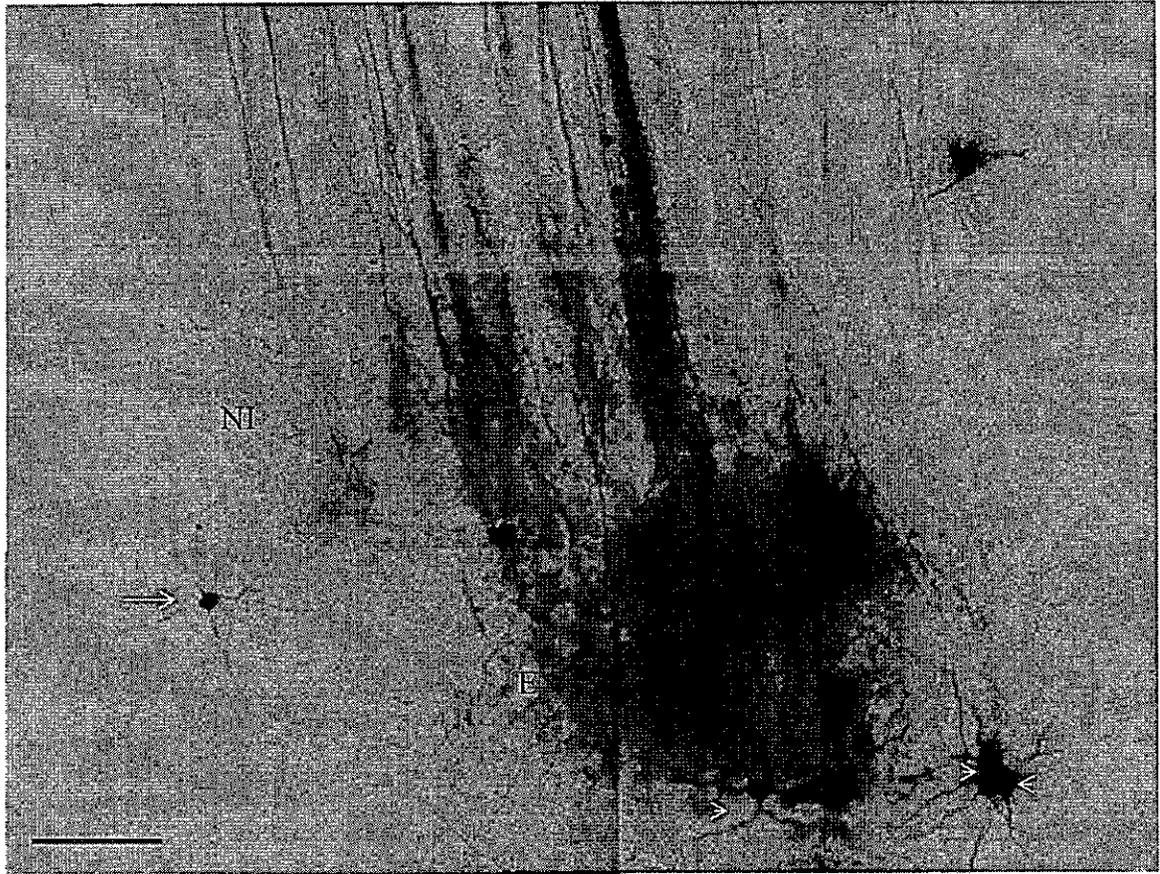


Figura 55

Organización de axones mesopaliales: Inyección de Dil (no mostrado) en la región del mesopallio ventral. Se observa que los axones mesopaliales colateralizan en la zona del NI y entopallio mas dorsal. Se observan además neuronas retrógradamente marcadas en la región mas dorsal del entopallio (cabezas de flechas) y en el límite entre este núcleo y el NI (flecha). Barra de calibración: 100 micrones.

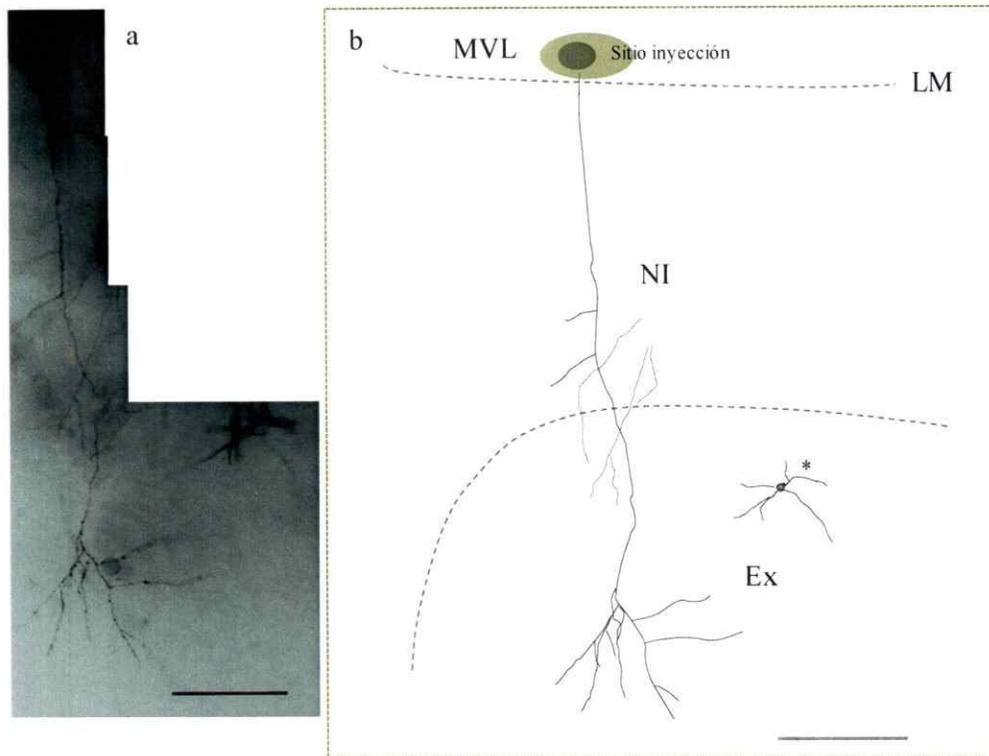


Figura 56

Terminal mesopodial en el NI y entopodio dorsal: Inyección de Dil en la zona ventral del mesopodio. Reconstrucción a partir de imágenes confocales de un axón mesopodial terminando en la zona dorsal del entopodio. **(b)** es un diagrama de **(a)** y muestra el sitio de inyección del cristal de Dil sobre la lámina mesopodial (LM). Note que este axón deja colaterales en la región del nidopodio intermedio (NI) y termina en el entopodio dorsal o externo (Ex). Además se observa una neurona entopodial que fue marcada retrógradamente (*) desde el sitio de inyección. En (a) los colores fueron invertidos para mejorar el contraste. Barra calibración en a y b: 200 micrones. MVL: mesopodio ventral-lateral.

4.2 Conectividad reciproca en la región medial del sistema entopalio/mesopalio:

Por medio de inyecciones de biocitina en rebanadas vitales hemos descrito parte de la organización del la región del nidopalio medial, recipiente de Triangularis y/o DLP. Hallamos que el sistema nidopalio/mesopalio medial se organiza de manera equivalente a lo descrito anteriormente, en el caso del entopalio/mesopalio. Es decir, existen un sistema de proyecciones reciprocas entre ambas regiones, que se expande rostro-caudalmente (tabla 3). En este caso se observa que los procesos axonales en ambas direcciones se organizan radialmente, de manera equivalente a la región medial del entopalio (Figuras 57 – 60). Más estudios son necesarios para evaluar si este sistema corresponde solo a la región recipiente de triangularis o incluye parte de la región terminal nidopalial de DLP.

En resumen, nuestros resultados nos permiten establecer las siguientes conclusiones:

- a) Existe un sistema de conectividad reciproca y topográficamente ordenado (medio-lateral y rostro-caudal) entre el entopalio y el mesopalio visual, extendido además al componente más medial y posterior del entopalio (y/o nidopalio recipiente de DLP). Más específicamente, hemos descrito que este ordenamiento deriva de la existencia de “módulos” de conectividad reciproca establecidos entre grupos discretos de neuronas entopaliales y mesopaliales.
- b) las neuronas entopaliales comprometidas en cada arreglo “columnar” presentan un soma cuyo eje mayor tiene en promedio alrededor de 15 micrones y una arborización dendrítica que alcanza en promedio los 170 micrones. La morfología de estas celulas es de tipo estelar. Las celulas mesopaliales en cambio, poseen un tamaño mayor (soma

promedio 19 micrones) destacándose la gran extensión que puede alcanzar su arborización dendrítica (hasta 300 micrones; promedio 244 micrones)

c) Hemos determinado que la región del nidopallio intermedio (NI), no recibe colaterales de células entopaliales mesopallio-proyectantes y que si lo hace de neuronas mesopaliales en ruta al entopallio.

d) Además, a partir de las inyecciones en palomas, determinamos la presencia de axones rotundales en la región del NI (lateral y medial). Complementando este resultado con lo descrito respecto de la presencia de colaterales mesopaliales en esta región, el NI aparece como un lugar de convergencia de circuitos extra (rotundus) e intratelencefálicos (mesopallio/entopallio?).

d) También hemos determinado que la proyección rotundus-entopallial siguen una topografía medio-lateral fina o específica. Esto nos ha revelado por una lado, la proyección al nidopallio medial (entopallio y NI dorsal) de triangularis y por otro a una zona medial (y ventral) equivalente pero más posterior, en el caso de DLP. Cabe destacar que hasta ahora no existía claridad respecto de la imagen terminal de Tr sobre el entopallio.

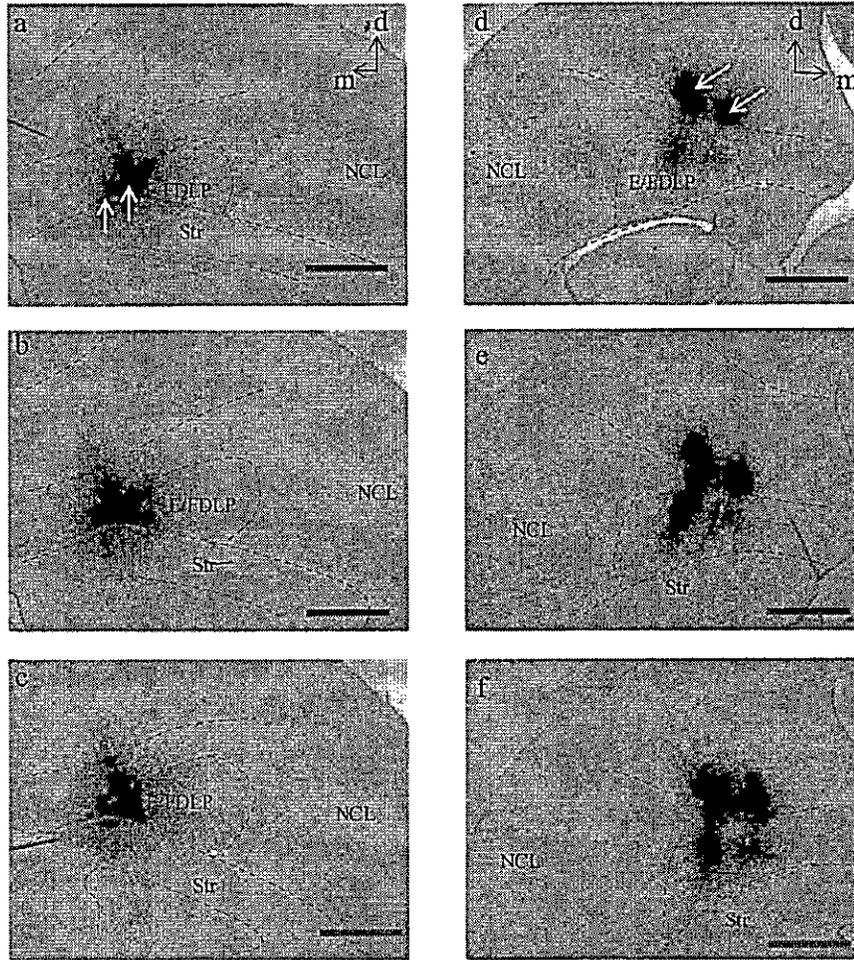


Figura 57

Conectividad reciproca entre el sistema nidopalio/mesopalio medial: (a) - (c) serie rostro-caudal mostrando el resultado de dos inyecciones adyacentes en el nidopalio/entopalio medial y posterior. Note el sistema de fibras que asciende hasta la región del mesopalio, dando origen a una región terminal (d) - (f): Serie rostro-caudal mostrando el resultado de dos inyecciones en la zona del mesopalio medial. Es posible distinguir dos tractos que descienden paralelamente hasta la región del entopalio o nidopalio medial. Barra de calibración: 1mm.

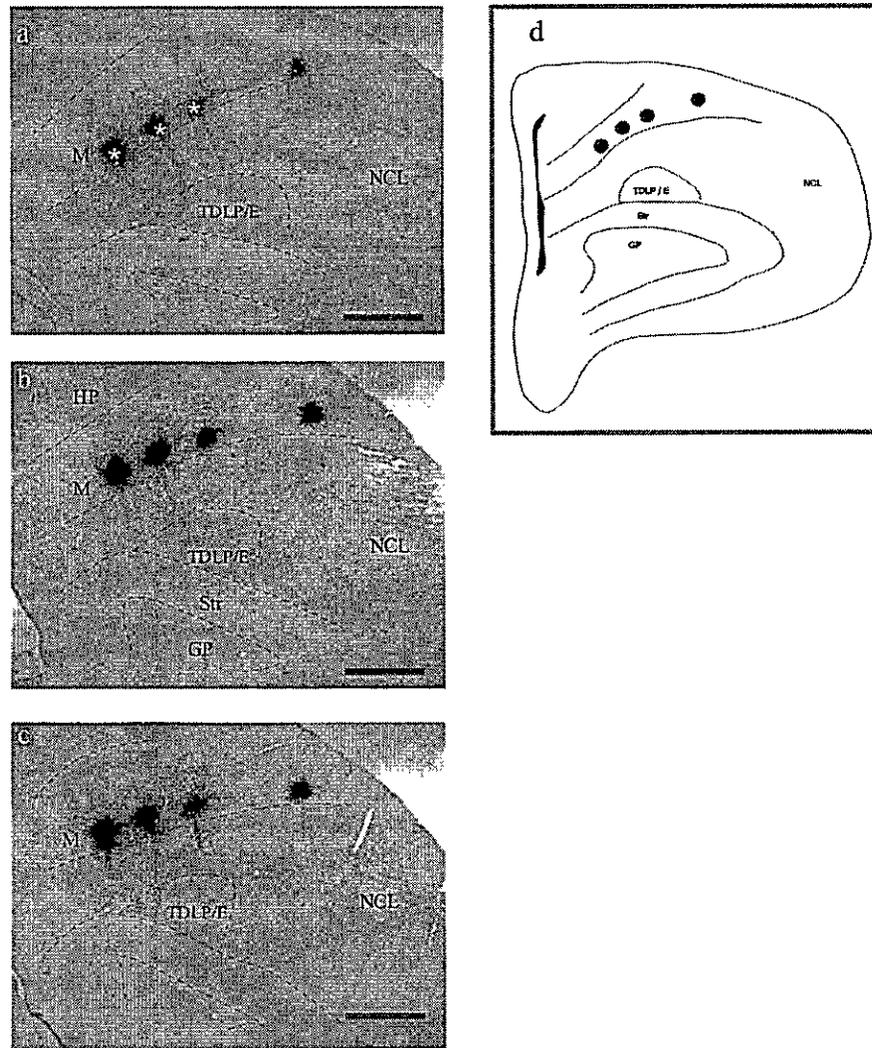


Figura 58

Conectividad reciproca entre el sistema nidopallio/mesopallio medial: (a) - (c) serie rostro-caudal mostrando el resultado de cuatro inyecciones adyacentes distribuidas a través del mesopallio medio-lateral. En el caso de las inyecciones mediales (asteriscos) se observan fibras que, en cada caso, descienden hasta la región del entopallio (E) medial y/o sector recipiente de DLP (TDLP) en donde dan origen a regiones terminales (d) es un esquema de los sitios de inyección. Notes que la inyección mas lateral no genera un sistema de proyecciones comparables al resto de las inyecciones. Barra de calibración: 1mm.

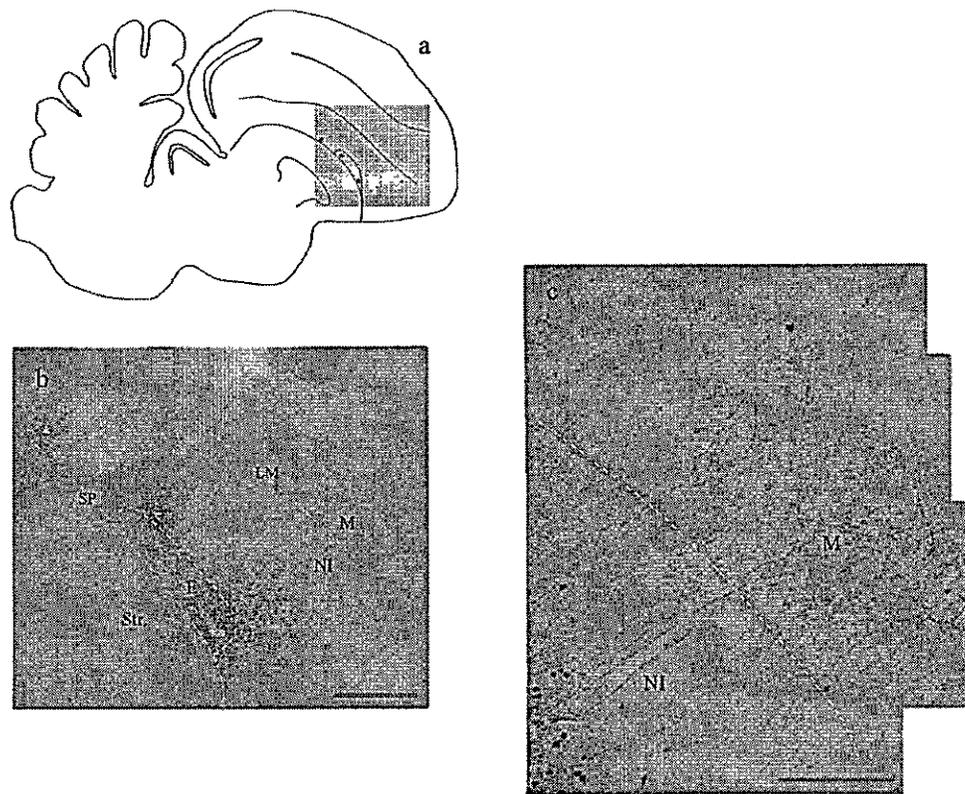


Figura 59

Inyecciones en nidopallio medial: (a) esquema sagital indicando los sitios de inyección (asteriscos en b) a través del entopallio/nidopallio medial y ventral (próximos a la lamina palio-subpallial; SP) y la región del mesopallio en donde se encontraron terminales y células retrógradamente marcadas. (b): En el caso de las inyecciones más anteriores (***) se puede distinguir un sistema de fibras conecta cada uno de los sitios de inyección (entopallio/nidopallio) con regiones discretas del mesopallio. (c) detalle de sistema de proyecciones reciprocas ento-mesopalliales. Se presume que la región mas opaca en el mesopallio (M) corresponde a la zona terminal principal para el sitios entopallial inyectado. Str: estriado; NI: nidopallio intermedio; M: mesopallio; SP: lamina palio-subpallial; LM: lamina mesopallial; M: mesopallio. Barra calibración: (b) y (c): 500 y 250 micrones respectivamente.

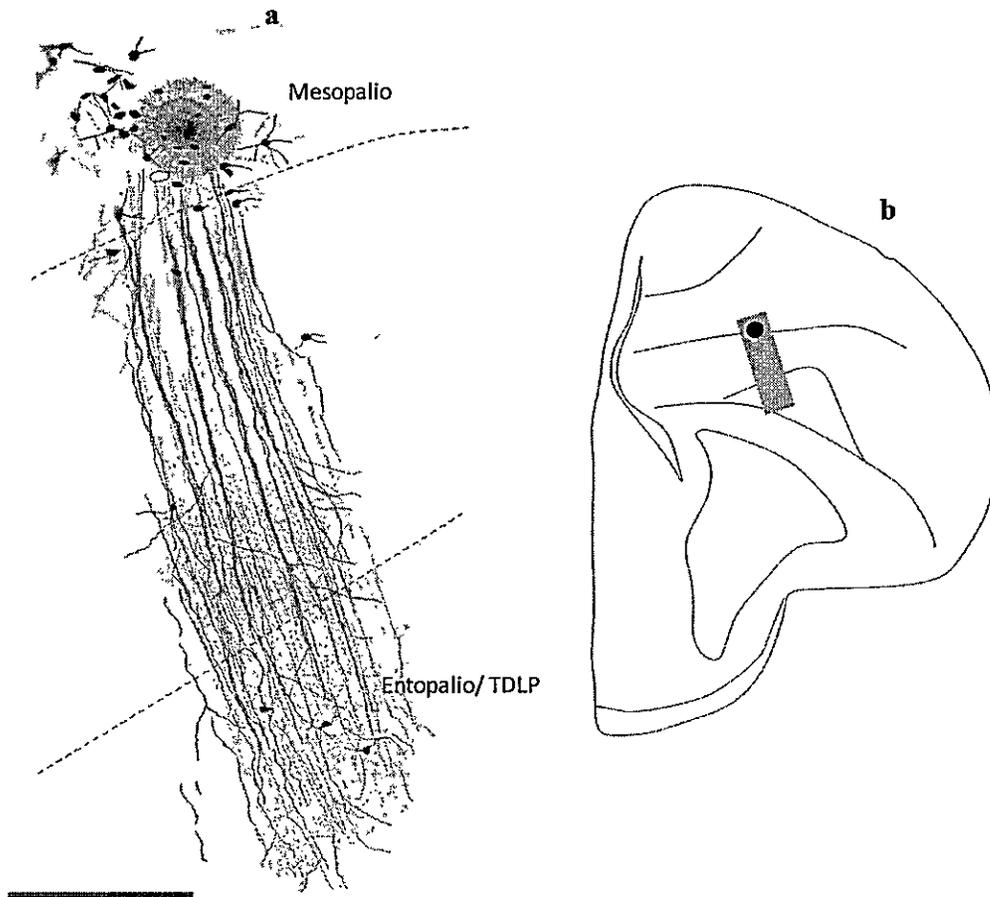


Figura 60

“Columnaridad” en la proyección entopallio medial- mesopallio: (a): Reconstrucción en cámara lúcida de un sistema de proyecciones que conecta el mesopallio medial con la región medial del entopallio posterior (y/o sector terminal de DLP), a partir del depósito de un pequeño cristal de biocitina en el mesopallio medial (b). Se observan fibras que descienden y dejan terminales a través de un módulo de extensión medio-lateral limitada. Barra:400 micrones

Discusión

En aves, la vía colotalámica o tectofugal constituye el principal sistema de proyecciones sensoriales y participa protagónicamente en las complejas conductas visuales y auditivas que este tipo de vertebrados exhibe (Pettigrew y Konishi, 1976; Frost et al., 1990; Shimizu et al., 2010; Watanabe y Bishof, 2011). En el caso de la proyección colofugal visual, lesiones en distintos puntos de esta vía (tectales, rotundales o entopaliales) resultan en severos déficit perceptuales que afectan la discriminación de intensidad, forma, color y movimiento de un objeto (Hodos y Karten, 1974; Hodos et al., 1984; Weiss y Hodos, 1986; Bessete y Hodos, 1989).

Por otro lado, la capacidad de utilizar distintas señales visuales en procesos de memoria y aprendizaje o la fabricación y uso de herramientas se ha correlacionado (al igual que en mamíferos) con el tipo de organización de los circuitos intratelencefálicos involucrados en esto (Rugani et al., 2011; Butler et al 2006). En vista de lo anterior ¿es posible que la organización del colopalio de aves refleje en parte el tipo de habilidades mencionadas?

1. Nidopalio visual: Estructura y límites.

1.1. Organización general del nidopalio colorecipiente:

Hemos mencionado que el nidopalio, siendo uno de los componentes principales del DVR, contiene regiones (núcleos) dedicados al tratamiento de actividad sensorial visual, auditiva, somática y posiblemente multisensorial (Karten, 1969; Benowitz y Karten, 1976; Wild et al., 1993; Gamlin y Cohen, 1986; Kroner y Gunturkun, 1999).

En aves, los antecedentes respecto de la vía tectofugal muestran que existe una topografía general asociada a las proyecciones colotalámicas sobre el telencéfalo (Wild, 1987; Csillag y Montagnese, 2005). Más específicamente, la proyección auditiva (desde el núcleo ovoidalis) y la proyección visual (desde el núcleo rotundus) se organizan conservando, a nivel nidopalial, la posición talámica relativa de cada uno de estos núcleos. Es decir, ambos sistemas de aferencias alcanzan el telencéfalo de manera segregada (rostro-caudal y medio-lateralmente) definiendo las regiones colorecipientes nidopaliales conocidas como *Field L* y entopalio, respectivamente (Husband y Shimizu, 1999; Krutzfeld y Wild, 2005; Fredes et al., 2010). Nuestros resultados confirman lo anterior y muestran además la existencia de una topografía medio-lateral de tipo específica, asociada a la proyección rotundus-entopalio (o “nidopalio visual”). Específicamente hallamos que, las regiones medial y lateral del rotundus, aferentan además de las zonas entopaliales internas, sectores nidopaliales intermedios localizados medial y lateralmente respecto del mismo núcleo (Figuras 15 y 16). Con esto también hemos mostrado la existencia de regiones nidopaliales colorecipientes, adicionales al entopalio y no descritas previamente.

1.2 El “nidopalio visual” incluye al entopalio y nidopalio intermedio:

El entopalio fue descrito inicialmente como la región del DVR que contenía de manera exclusiva las aferencias rotundales (Benowitz y Karten, 1976). De acuerdo con la preponderancia de este núcleo dentro del sistema tectofugal, múltiples trabajos han buscado definir sus límites y organización (Watanabe et al., 1986; Husband y Shimizu, 1999; Alpar y Tombol, 2000; Krutzfeld y Wild, 2004/2005). Husband y Shimizu (1999) en palomas, analizando la expresión de calretinina y parvoalbumina, más el patrón terminal de

aferencias rotundales sobre el “nidopatio visual”, incluyeron la zona del nidopatio intermedio (NI) como el componente más dorsal del entopatio. Con posterioridad a este trabajo Krutzfeld y Wild, en el pinzón zebra (2004) y en paloma (2005), describieron la organización entopatial a partir del patrón de expresión de citocromo oxidasa, parvoalbumina y calretinina. Lo anterior fue complementado con inyecciones de BDA y CTB en el rotundus lo cual permitió determinar de manera general el modo de organización de las aferencias rotundales. Considerando los criterios mencionados, estos autores definen tres zonas entopatiales principales; una interna, otra externa y una tercera región periférica, que explícitamente no incluye la zona del NI.

Como vemos, existen diferencias importantes en cuanto a la definición de las subdivisiones y límites del entopatio cuando se compara lo propuesto por Husband y Shimizu (1999) por un lado con lo señalado por Krutzfeld y Wild (2005) por otro. Aún más, marcadores moleculares como la proteína parvoalbumina se expresan de manera opuesta en el entopatio de zebra finch versus el de palomas (Krutzfeld y Wild 2004/2005).

Por otro lado descripciones del entopatio de pollo, a partir de material de golgi, indican que si bien es posible distinguir la zona central del entopatio de la región periférica, no existen diferencias entre esta última y NI (Tombol, 1995). En síntesis, la no correspondencia de los distintos tipos de criterios utilizados y la ausencia de un modo consensuado de interpretar la organización del nidopatio visual colorecipiente es, en parte, un reflejo del modo estratificado (y complejo) en que se organizan las aferencias rotundales sobre una región que supera en extensión al entopatio.

1.3 La proyección rotundal como criterio organizador del nidopalio visual:

La organización de las proyecciones talamocorticales en amniotas ha sido un criterio principal para definir la identidad de las principales regiones paliales en aves. Según esto, consideramos que la inclusión del NI como parte del nidopalio colorecipiente depende en gran medida de la extensión que alcancen los axones rotundales sobre esta región.

Previo a nuestro trabajo existían antecedentes que entregaban una idea general del modo en que terminan los axones colotalámicos, de ovoidalis y rotundus, sobre las regiones nidopaliales respectivas. En ambos casos ha sido descrita la existencia de un nivel o zona terminal principal más una o dos zonas terminales secundarias (Wild et al., 1993; Husband y Shimizu, 1999). Ngo y colaboradores (1994) por medio de inyecciones puntuales de *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin* (PHAL) en el núcleo rotundus de pollos, describieron axones rotundales (o colaterales de estos) terminando tanto en el entopalio como en NI. A su vez, Krutzfeld y Wild (2005) realizando inyecciones de BDA y CTB en el rotundus de paloma mencionan la presencia de axones rotundales que alcanzan la región del NI, sin lograr determinar el destino de estas fibras. De manera complementaria, en el caso auditivo se ha mencionado que los axones pertenecientes al núcleo ovoidalis además de terminar dentro una lámina específica de *Field L* (L2) también lo hacen minoritariamente dentro de L1 (Wild et al., 1993)

Utilizado un método de trazado retrogrado, a partir de inyecciones de DiI localizadas en la región del nidopalio visual (entopalio/NI) determinamos la presencia de axones rotundales extendidos a través de toda la zona del NI (Figuras 16 y 17). Confirmamos estos hallazgos realizando inyecciones de CTB (trazado anterogrado y retrogrado) en distintas posiciones

del núcleo rotundus. Nuestros resultados sugieren la presencia de regiones colorecipientes visuales en el NI, particularmente distinguibles en la región medial y lateral (Figuras 18-20; 21b). Además, con esto determinamos la posición de la región terminal de la subdivisión triangularis del núcleo rotundus, correspondiendo al tercio medial del entopallio mas una delgada banda terminal localizada en borde dorsal del NI, adyacente a la lamina mesopallial (Figura 24).

En relación con lo anterior, exploramos la trayectoria que siguen los axones rotundales que aferentan el nidopallio visual, evaluando la posibilidad de que existan fibras individuales y /o colaterales de estas que invadan el NI. Para esto realizamos, en rebanadas sagitales de cerebro de pollo, inyecciones de biocitina sobre el tracto de axones rotundales (FPL) que atraviesa la región subpallial en ruta al nidopallio. Observamos en prácticamente todos los casos analizados (10 casos) la presencia de axones rotundales que se dividen y generan dos ramas principales que siguen direcciones opuestas (Figuras 27 - 28). Cada rama recorre una distancia variable y sufre un adelgazamiento previo al establecimiento de la arborización terminal. Además, la observación de axones individuales de origen rotundal nos permite tener una idea del modo en que estos se ramifican y terminan dentro y/o fuera del entopallio. Específicamente observamos que la ramificación de cada axón puede ocurrir en el borde ventral (incluso antes) del entopallio o luego de haber recorrido aproximadamente la mitad del núcleo, en dirección dorsal (Figura 29). De manera preliminar es posible sugerir que aquellos axones que se dividen en una zona más dorsal dentro del entopallio, pueden ser el origen de aquellas fibras (colaterales) que invaden el NI.

Si fuese posible determinar inequívocamente que la mayoría de los axones rotundales siguen el patrón de organización descrito aquí, esto permitiría explicar dos características de la proyección rotundus-nidopalio visual; por un lado la presencia de axones y terminales dentro del NI (descrito en esta tesis) y por otro la segregación dorso-ventral de esta proyección dentro del entopalio que, según los antecedentes, genera dos zonas de mayor densidad de terminales, separadas justamente en el eje dorso-ventral (Krutzfeld y Wild, 2004; Fredes et al., 2010; Figura 61). Respecto de este último punto cabe destacar que si bien la organización general de la proyección rotundus-entopallial es topográfica rostro-caudalmente, la gran extensión longitudinal de la división central del entopalio (recipiente de la subdivisión Centralis del rotundus) no se ajusta completamente a una topografía fina, tal como ha sido sugerido. Un modelo de organización de los axones rotundales en el cual cada fibra sufre una bifurcación primaria, a partir de la cual se generan dos ramas principales y divergentes (antero-posteriormente), permitiría explicar la gran extensión de dichas zonas terminales (Figura 61, esquema b).

En síntesis, sugerimos que la presencia de axones rotundales individuales y/o colaterales de estos a nivel del nidopalio intermedio, claramente distinguibles en las zonas medial y lateral del NI, hace necesario incluir a esta zona como parte del nidopalio colorecipiente visual (Figura 62)

Por otro lado, antecedentes fisiológicos apoyan la idea de un nidopalio visual extendido al NI puesto que esta región exhibe respuestas visuales a través de toda su extensión dorso-ventral (observaciones personales). Estudios adicionales, anatómicos y fisiológicos, son necesarios para determinar la posibilidad de que existan distintos circuitos intrapalliales

asociados a cada uno de estos tres niveles nidopaliales colorecipientes (E interno, E externo y NI). Además, es necesario determinar la posible equivalencia entre este sistema y DVR de reptiles, donde se ha descrito una segregación dorso-ventral para las aferencias rotundales sobre el entopallio/DVR visual (Hodos y Butler, 2005).

Cabe destacar que, en mamíferos, los antecedentes respecto del modo en que los axones talámicos se organizan a nivel neocortical muestran que estos terminan en más de un nivel cortical. Un ejemplo de esto es el ordenamiento topológico de los axones talamocorticales en la corteza somatosensorial primaria de ratones (Agmon et al., 1993; Nieuwenhuys, 1998). A través de la dimensión radial cortical, los terminales talámicos se segregan en dos niveles. El primero de estos, en límite entre las laminas V y VI y el segundo (principal) a través de las capas IV y III (Frost y Caviness, 1980). De manera reciente, Fredes y colaboradores (2011) por medio de inyecciones anterogadas restringidas a la componente caudal del complejo pulvinar de ardillas, muestran que los axones pulvinares se distribuyen en dos laminas (IV principal y VI secundaria) en la región neocortical temporal. A su vez, inyecciones en el pulvinar rostral marcan anterogradamente terminales en la capa IV (principalmente) y capa VI, del área 19. Estos antecedentes destacan la manera estratificada en que se organizan los axones talamocorticales sobre las respectivas regiones colorecipientes, en aves y mamíferos. Esto puede ser interpretado como un punto de equivalencia estructural entre ambos sistemas.

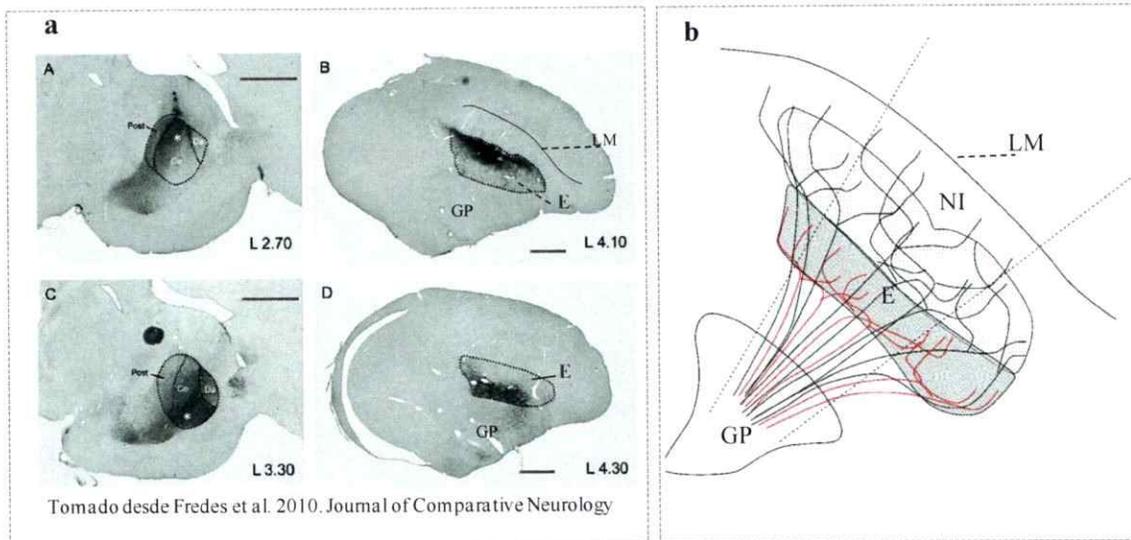


Figura 61

Organización de los axones rotundus-entopaliales: (a) imágenes de inyecciones de CTB en la región dorsal (A) y ventral (C) de la subdivisión Centralis del núcleo rotundus de paloma. En el primer caso, se observa que la marca anterograda se extiende rostro-caudalmente a través del entopalio (E) dorsal (B). En el segundo caso, la marca anterograda compromete una gran extensión longitudinal del entopalio, pero la localización de esta banda terminal es ventral (D). (b) Una posible interpretación de estos antecedentes y de nuestros resultados implica considerar un modelo de organización para el nidopalio visual en donde la mayoría de los axones rotundales se bifurcan en dos niveles dorso-ventrales distintos (axones rojos versus negros en b). Esto definiría dos zonas extendidas longitudinalmente, segregadas dorso-ventralmente (Regiones diferencialmente achuradas dentro del entopalio), permitiendo además explicar la presencia de fibras rotundales que terminan dentro del nidopalio intermedio (NI) LM: lamina mesopallial; GP: globus pallidus. (a) imagen modificada desde Fredes et al. 2010. Barra calibración: 1 mm.

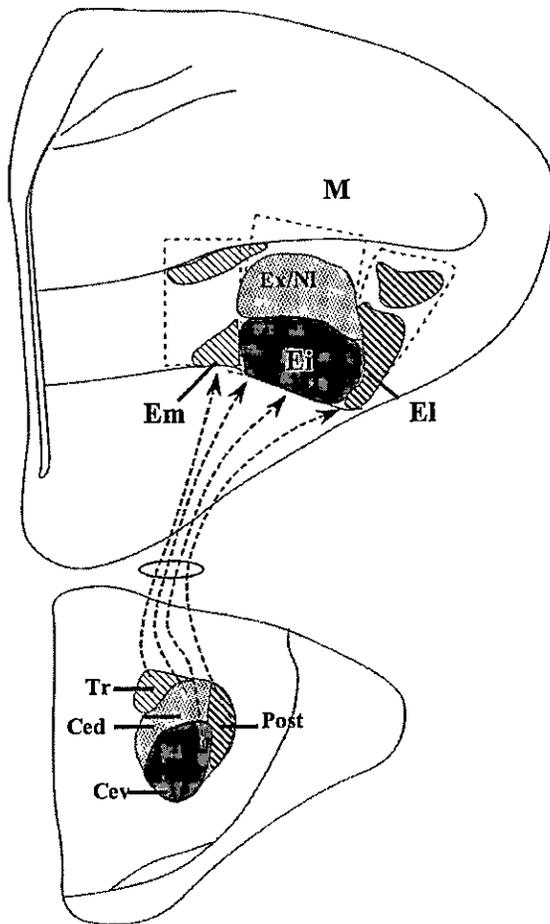


Figura 62

Modelo de organización de las proyecciones desde el núcleo rotundus al núcleo visual:
 Hemos determinado la presencia de axones rotundales en la región del núcleo visual intermedio (NI) principalmente en los sectores lateral y medial (regiones achuradas con líneas diagonales). Además, hemos mostrado que la proyección rotundus-entopalial siguen una topografía medio-lateral fina o específica, que incluye la proyección al núcleo visual medial (entopalio y NI dorsal) de la subdivisión triangularis (Tr). El modo de organización a nivel nuclear parece general dos zonas de terminales principales, segregadas dorso-ventralmente. Complementando estos resultados con lo descrito respecto de la presencia de colaterales mesopaliales en el NI, esta región aparece como un lugar de convergencia de circuitos extra e intratelencefálicos.

2. Organización del colopalo en aves:

2.1 Consistencia citoarquitectónica a través de las regiones colopaliales.

En aves, la proyección desde el núcleo principal de trigémino alcanza sin un relevo talámico, la región del nidopalo anterior y lateral (Wild et al., 1985). La zona recipiente de esta proyección recibe el nombre de Núcleo Basalis (NB). En pinzón zebra y pato el NB está formado por dos zonas principales, una región central mas una región periférica (Wild y Farabaugh, 1996; Dubbeldam y Visser, 1984, respectivamente). En esta última zona, los cuerpos neuronales se ordenan linealmente, formando columnas de orientación radial. Estos trabajos además han mostrado que NB sostiene proyecciones reciprocas con parte del mesopalo adyacente.

En el caso de *Field L*, Wang y colaboradores (2010), a partir de la descripción de la relación entre esta región y el mesopalo caudo-medial, han sugerido que este sistema se organiza de manera equivalente a la corteza auditiva de mamíferos (A1). La existencia de láminas o bandas (L1/L2/L3/CM) y módulos de aspecto “columnar”, han permitido sostener esta comparación.

Previo a esta tesis, existían antecedentes que sugerían un sistema de conectividad reciproca entre el entopalo y el mesopalo de aves. Alpar y Tombol (2000), por medio de inyecciones de una trazador anterogrado (BDA) en el entopalo, demostraron la presencia de una región terminal en lo que ellos denominaron nidopalo intermedio dorsal. Esta es reconocida actualmente como mesopalo. Además, Krutzfeldt y Wild (2005) describieron proyecciones reciprocas entre el entopalo y mesopalo ventro-lateral de palomas y Zebra finch (Krutzfeldt y Wild, 2004).

Nuestros resultados confirman la existencia de un sistema de proyecciones reciprocas entre el nidopalio y mesopalio visual de pollos. Es decir, tanto las inyecciones de biocitina realizadas en el entopalio como aquellas localizadas en el mesopalio, permiten observar regiones terminales mesopaliales y entopaliales, respectivamente. Consideramos una región terminal como aquella área que exhibe una mayor densidad de marca, producto de una mayor granulosis. Presumimos que esto se debe al enriquecimiento en terminales sinápticos. Además, comúnmente es posible observar dentro de los límites de cada región terminal, ramificaciones y adelgazamientos de axones que terminarían dentro de tal sector (Figura 40a).

Los axones que participan en el sistema entopalio-mesopalio, ordenados dorso-ventralmente, definen una topografía medio-lateral y rostro-caudal, lo cual genera circuitos de conectividad reciproca a través de toda la extensión longitudinal del DVR sensorial visual (Figuras 41, 42 y 44).

Un dato fisiológico que apoya nuestros resultados es el aportado por Engelage y Bischof (1989) quienes a través de un análisis de densidad de corriente, frente a respuestas evocadas por estímulos luminosos de corta duración, exploran la organización del entopalio del Pinzón zebra. Realizando penetraciones verticales recorren en entopalio desde el borde dorsal al límite ventral del mismo y determinan que la orientación en que se movilizan los flujos de corriente (sumideros versus fuentes) es, principalmente en el eje dorso-ventral, paralelo al curso de cada penetración. A partir de este resultado, los autores sugieren que el entopalio presenta un alto grado de orden y que existen circuitos neuronales que favorecen la movilización de las distintas corrientes en una dimensión dorso-ventral. Esto coincide



con nuestros resultados respecto de la orientación de cada modulo de conectividad reciproca ento-mesopaliaal.

2.2. Entopaliao:

Las neuronas entopaliales que forman parte de cada modulo de conectividad reciproca o "columna", localizadas a través de la zona centro-dorsal del entopaliao, poseen una morfología somatodendrítica que las distingue de otros morfotipos entopaliales. A través del método de llenado de celulas individuales, complementado con el análisis de inyecciones pequeñas de biocitina en rebanadas vitales, hemos determinado que estas celulas exhiben un soma cuyo diámetro promedio es cercano a los 15 micrones, una arborización dendrítica de tipo estelar (entre 5-6 dendritas orientadas radialmente desde el soma y ramificadas 1 o 2 veces) con una expansión promedio del orden de 170 micrones. Además, hemos descrito que estas neuronas mesopaliao-proyectantes exhiben dendritas de entre 1 y hasta 2 micrones en su zona de mayor diámetro (próxima el soma) y múltiples espinas dendríticas distribuidas homogéneamente (Figura 50). Este tipo de morfología coincide con los antecedentes existentes (Tombol et al., 1993; Watanabe et al., 1986) pero difiere, principalmente en tamaño, de aquellas neuronas "granulares" (cuyos somas en promedio alcanzan los 10 micrones de diámetro) que participan en sistema de proyecciones reciprocas del complejo *Field L/CM* y que han sido comparadas con las celulas granulares de la capa IV de la neocorteza auditiva (Wang et al., 2010).

Nuestros resultados indican además, que los axones de las neuronas entopaliales que proyectan al mesopaliao exhiben varicosidades a través de toda su extensión y en ningún caso documentado fue posible distinguir colaterales de estos en la zona del NI.

Por último, hemos observado que existen otros morfotipos de neuronales entopaliales que, a diferencia de aquellas neuronas estelares (Figura 50). Esto es consistente con los antecedentes y sugiere la existencia de circuitos intra-entopaliales (Watanabe et al., 1986; Tombol et al., 1993).

2.3 Mesopalio:

La región mesopalial que sostiene proyecciones recíprocas con el entopalio, parece estar organizada en dos niveles. De acuerdo con el nivel de granulosidad y presencia de ramificaciones terminales de axones entopaliales, sugerimos que la primera de estas zonas (más ventral) es la que recibe el grueso de las aferencias desde el entopalio (Figura 51 y 54a).

Por otro lado, mediciones en ambos niveles (dorsal-ventral) indican que las neuronas entopalio-proyectantes poseen un soma que en promedio alcanza los 19 micrones (n= 40). Las neuronas mesopaliales (visto principalmente en el nivel mesopalial más dorsal) exhiben una arborización dendrítica que puede alcanzar los 300 micrones (Figuras 45, 52 y 53). Estudios adicionales son necesarios para dilucidar si uno o ambos niveles mesopaliales se comunican diferencialmente con distintos niveles del entopalio.

En síntesis, nuestros resultados confirman la idea central propuesta en la hipótesis, referida a la existencia de un patrón citoarquitectónico tipo "columnar" y topográfico, que caracteriza la relación entre el entopalio y mesopalio sensorial. Atendiendo a los

antecedentes respecto del colopalio auditivo, este tipo de arreglo sería extensible al resto del DVR sensorial (Figura 63)

3. El nidopalio intermedio (NI) es una zona de convergencia para las aferencias cólicas y mesopaliales.

Hemos determinado que los axones mesopaliales que proyectan al entopalio dejan una o más colaterales en la región del NI /entopalio externo o periférico. Además hemos mostrado que el NI parece recibir proyecciones de aquellas neuronas mesopaliales que forman parte de cada módulo o "columna" ento-mesopaliale. Esto nos parece significativo, debido a que NI (o entopalio periférico) es la zona de proyección principal de este sistema, de manera equivalente a como lo es en el caso auditivo, la región L1/NI. A través del NI, el entopalio proyecta a la región del palio externo, compuesta por el nidopalio frontal lateral (NFL), el nidopalio intermedio lateral (NIL), el nidopalio caudolateral (NCL) y el área temporo parieto occipital (TPO). A su vez, estas regiones envían aferencias al estriado lateral (Veenman et al., 1995). Además y como hemos descrito, parte de la proyección rotundal alcanza la región del NI, lo cual hace de esta zona un punto de convergencia para las aferencias mesopaliales y parte de la proyección colofugal talámica. Lo anterior hace necesario evaluar la organización fina del NI, para determinar si dentro de esta región existe una segregación de grupos celulares que puedan participar en los diferentes circuitos paliales mencionados (Figura 64).

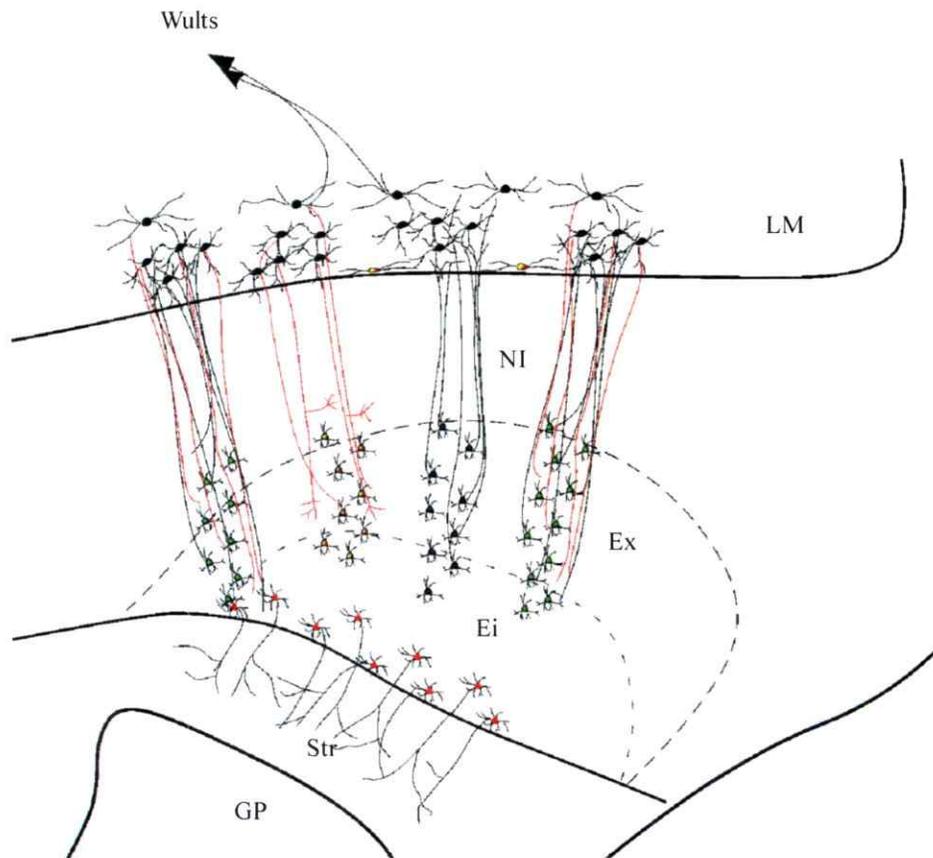
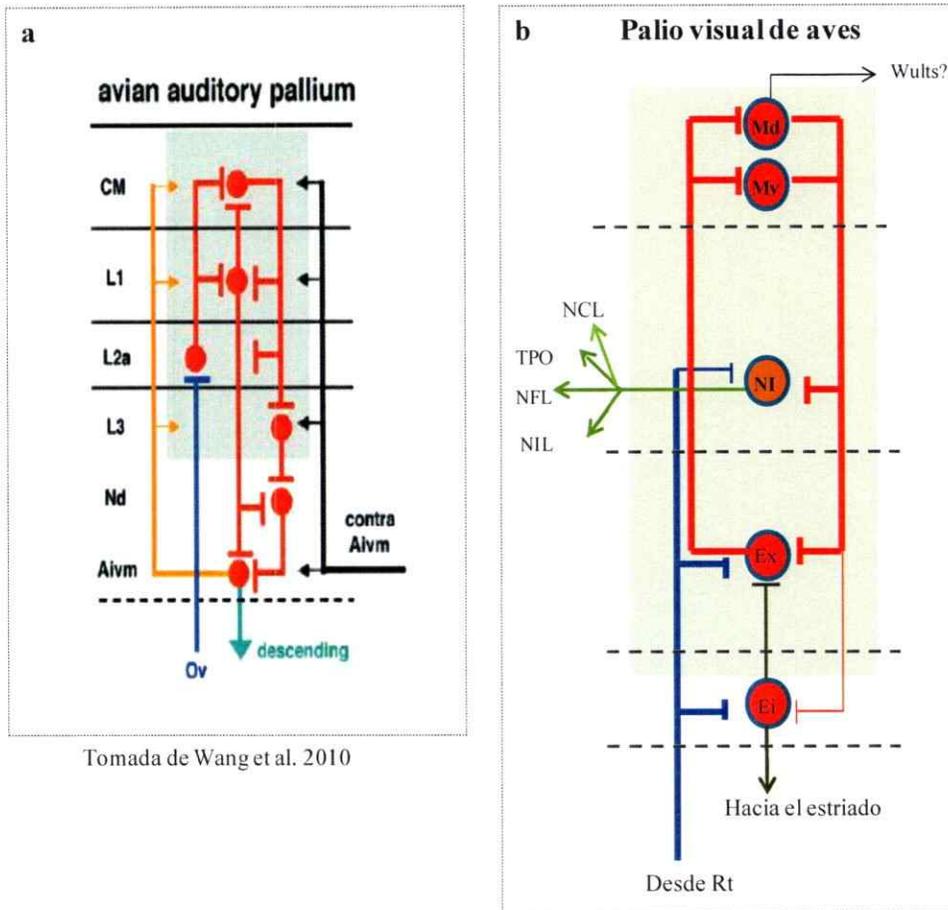


Figura 63

Modelo de organización del sistema colopial visual: Hemos determinado la existencia de un sistema de proyecciones recíprocas entre la región nidopialia colorecistente visual y el mesopallio dorsal adyacente. Estas proyecciones se organizan en "módulos" de apariencia "columnar", siguiendo el eje dorso-ventral del cerebro. Este sistema "modular" se expande a través del coloplio sensorial siguiendo un arreglo topográfico en ambos sentidos, medial-lateral y rostro-caudal. Las células entopiales que contribuyen a este sistema columnar se localizan principalmente en la región medial de este núcleo, según el sentido dorso-ventral del mismo. Además hemos determinado que la región del nidopallio intermedio (NI), no recibe colaterales de células entopiales mesopaliales proyectantes y que si lo hace de neuronas mesopaliales en ruta al entopallio.

El nidopallio recipiente de la proyección desde DLP y el mesopallio medial establecerían una organización equivalente al sistema entopallio/mesopallio. Esto implica que el tipo de organización citoarquitectónica descrito en esta tesis es una característica de todo el DVR colorecistente.



Tomada de Wang et al. 2010

Figura 64

Comparación entre la organización del DVR auditivo y visual:

En (a) se muestra el modelo propuesto por Wang et al. (2010) para describir la organización de la circuitería asociada al DVR auditivo de aves (Field L). Básicamente se destaca la existencia de circuitos recurrentes organizados “columnarmente” entre “laminas” de Field L (L2a y L1) y el mesopálio caudo-medial (CM). Además se indica la conectividad entre Field L y el arcopálio, el cual corresponde a un núcleo localizado en el DVR posterior y que genera tractos descendentes motores intra y extratelencefálicos

En (b) presentamos un modelo que resume parte de nuestros hallazgos respecto de la conectividad intrapalial del DVR visual de aves. Ambos modelos comparten un modo de organización que implica la recurrencia entre grupos neuronales discretos del nidopálio (entopálio externo, Ex) y del mesopálio adyacente (Mv y Md). Se destaca la zona del nidopálio intermedio (NI) como una región de proyección a otras áreas paliales y sobre la cual convergen al menos dos sistemas diferentes, las proyecciones rotundas y aquellas colaterales de neuronas mesopaliales. Solo la región más ventral del entopálio proyecta al estriado.

Ov: Núcleo ovoivalis; Aivm: Núcleo Arcopálio intermedio ventral; Nd: Nidopálio dorsal(intermedio); TPO: áreas temporo-parieto occipital; NFL: nidopálio frontal-lateral; NCL: nidopálio caudo-lateral; NIL: nidopálio intermedio lateral.

4. Implicancias de nuestros resultados:

Nuestros resultados apuntan a una conservación de un patrón citoarquitectónico entre las distintas regiones del DVR sensorial de aves. Además, de manera equivalente lo sugerido en el caso colopálio auditivo (Wang et al., 2010), el DVR visual de aves comparte características citoarquitectónicas con la región colorecipiente visual de la neocorteza de mamíferos. Considerando estos antecedentes, expondremos brevemente las hipótesis respecto de la evolución del palio en amniotas, particularmente el origen de la neocorteza y DVR.

4.1. Palio medial: ¿Homologías entre territorios de palio dorsal de aves, mamíferos y reptiles?

Antecedentes topológicos, hodológicos y embriológicos (expresión diferencial de genes homeóticos en el desarrollo) apoyan la idea de homología entre la región dorsal y medial del *wulfs* aviar, la zona cortical dorsal de reptiles y el sector superior de la neocorteza de mamíferos (Karten et al. 1973; Medina y Reiner 2000; Jarvis et al., 2004). Más específicamente en aves, se ha sugerido que el *wulfs* contendría poblaciones de neuronas equivalentes a aquellas localizadas en la capa cuatro de la neocorteza visual (V1) y somatosensorial primaria (S1) (Butler et al., 2011). Sin embargo, antecedentes morfológicos y de desarrollo sugieren que algunas características estructurales y fisiológicas comparables entre el *wulfs* y la neocorteza se habrían establecido en ambos linajes a través de procesos evolutivos independientes. Por un lado, el establecimiento de “laminas” o bandas en el *wulfs*, surge por medio de un proceso de desarrollo distinto a aquel descrito en el caso de la corteza de mamíferos, difiriendo esencialmente en la

orientación de la glía que utilizan las neuronas durante el establecimiento de ambas regiones. Además, la ausencia de neuronas piramidales en el *wulfs* aviar es una diferencia destacable entre ambos sistemas, puesto que este tipo de células participa en la organización columnar de la corteza cerebral.

Las similitudes y diferencias entre una parte del *wulfs* de aves y el sector dorsal de la neocorteza de mamíferos destacan que ha sido posible considerar dos regiones como homologas a partir de su organización, aún cuando algunos componentes difieran entre ambos sistemas. En este sentido John Kass (2011) sostiene que la neocorteza no es una estructura nueva, más bien deriva de un sector equivalente a la región cortical dorsal de reptiles. Considerando que las neuronas corticales que reciben aferencias sensoriales talámicas son distintas en uno u otro caso (estelares de la capa IV de la neocorteza de mamíferos y piramidales en reptiles) esto sugiere que es posible conservar un cierto tipo de arreglo estructural aun cuando los elementos que participen en su formación sean distintos.

4.2. Palio lateral: Al inicio de este trabajo, mencionamos que el origen evolutivo del DVR y sus posibles relaciones de homología con sectores de la neocorteza o con otras regiones cerebrales de mamíferos es aún un tema de debate (Aboitiz, 1999; Krutzfeld y Wild, 2011 en prensa). En relación con esto, nuestros resultados (siendo consistentes con lo propuesto como punto central en la hipótesis), confirman la equivalencia citoarquitectónica entre el DVR visual y el sistema auditivo formado por *Field L* y CM. Sin embargo cabe destacar que, aún cuando parezca atractiva la comparación entre el DVR sensorial de aves y la neocorteza de mamíferos, es claro que no todas las características descritas en esta tesis

satisfacen todos los criterios estructurales que definen la organización columnar propia de mamíferos.

De acuerdo con lo anterior, es posible interpretar nuestros resultados y el conjunto de antecedentes existentes, de (al menos) dos maneras distintas. Por un lado, cabe considerar las similitudes entre el DVR sensorial de aves y la corteza extraestriada de mamíferos un caso de convergencia evolutiva. Por otro lado es posible interpretar estas similitudes como rasgos conservados desde un ancestro común. En este sentido se han formulado dos hipótesis que explican el origen del DVR, a partir de “fuentes” paliales distintas:

a. Hipótesis claustro-amigdalar:

Esta hipótesis, propuesta inicialmente por Bruce y Neary (1995) y desarrollada en trabajos posteriores (Girado et al., 2005) sostiene que el DVR de sauropsidos representa una elaboración de parte de la amígdala palial (basolateral), del núcleo endopiriforme y/o claustro de mamíferos. Esta hipótesis además sostiene que la región dorso-medial del palio de sauropsidos (*wults* de aves y corteza dorsal de reptiles) es el único sector homólogo a parte de la neocorteza de mamíferos. Desde esta óptica, las similitudes entre el DVR y la neocorteza corresponderían a un proceso de convergencia. Si este fuera el caso, sería necesario justificar además, la ausencia en sauropsidos de proyecciones colofugales (visuales y auditivas) que deberían terminar en el sector del *wults* de aves y la corteza dorsal reptiles, tal como ocurre en la neocorteza de mamíferos.

b. Hipótesis nuclear a laminar:

En 1969 Harvey Karten propuso a partir del patrón de conectividad aferente, que el DVR de aves contendría poblaciones de neuronas y circuitos homologos a aquellos presentes en la neocorteza sensorial de mamíferos (Karten 1968; 1969). Esta hipótesis además dio pie a una explicación respecto del origen de la neocorteza de mamíferos, como una transformación desde un palio (ancestral) de organización nuclear (similar al de aves y reptiles) a un palio laminar, conservando los circuitos básicos asociados a las proyecciones colofugales (Karten, 1991).

La reciente descripción de la organización de DVR auditivo en pollos, apoya la hipótesis propuesta inicialmente por Karten. En esta misma dirección, Butler y colaboradores (2011) sostienen que el DVR auditivo y posiblemente el visual contendría grupos de neuronas homologas a aquellas localizadas en la capa IV de la región cortical temporal de mamíferos, específicamente en la región auditiva primaria y visual extraestriada. Es decir, la región de *Field L* que es recipiente de las aferencias desde *Ovoidalis*, sería homóloga a aquella región (grupo de células) que recibe aferencias desde *MGv* y que forman parte de la capa cuatro de *A1*.

En el primer escenario (hipótesis claustró-amigdalar; convergencia), se puede suponer que la formación *de novo* de la corteza cerebral en mamíferos, pudo haber determinado un reordenamiento de los principales sistemas de proyección sensorial, lo cual implica un cambio radical en la identidad de los territorios paliales recipientes, particularmente para las aferencias colotalámicas. El segundo escenario (hipótesis nuclear a laminar, homología) supone la conservación de un patrón de conectividad ancestral asociado directamente a la

conservación de las proyecciones colotalámicas y lemnotalámicas, incluidas las regiones paliales recipientes de uno u otro sistema. Pensamos que esta última interpretación implica menos pasos en la historia evolutiva de amniotas y puede explicar la actual similitud o equivalencia (homología) entre los circuitos sensoriales paliales en sauropsidos y mamíferos. Concretamente, nuestros resultados muestran una equivalencia en el modo de organización del VDR visual y auditivo, lo cual a su vez apoya la hipótesis inicialmente propuesta por Karten (1969) respecto del origen de la neocorteza, a partir de un proceso que conserva un tipo de conectividad y organización fundamental.

5. Concepto de columna neocortical como principio distintivo de mamíferos:

Hemos destacado la similitud entre el arreglo recíproco y topográfico del DVR visual de aves y la organización columnar de la corteza de mamíferos. Aún cuando es evidente que no es posible comparar una a una todas las características entre ambas regiones, es posible definir equivalencias entre ambos sistemas que puedan contribuir a un mejor entendimiento de aquellos aspectos palio-sensoriales que se han conservado en amniotas.

Inicialmente, Mountcastle (1955/57) describió la organización columnar de la corteza somatosensorial de gato, por medio de registros electrofisiológicos de células individuales. A partir de esta descripción el concepto de módulos columnares funcionales se generalizó al resto de la corteza (Mountcastle, 1997). Sin embargo, este modelo fisiológico no ha recibido un adecuado respaldo anatómico, fundamentalmente debido a falta de un patrón citoarquitectónico columnar específico y consistente intra e interespecíficamente (Horton y Adams, 2005).

Una columna, es definida funcionalmente como el agrupamiento, en una dimensión vertical, de células que comparten la misma sensibilidad para un determinado atributo del campo receptivo. Por ejemplo en la corteza estriada, neuronas con la misma preferencia ocular se agrupan formando “columnas de dominancia ocular”. Sin embargo, antecedentes recientes sugieren que la expresión de este tipo de columnas puede ser altamente variable a través de miembros de la misma especie o incluso entre diferentes sectores de la corteza visual en el mismo individuo (Rakic, 2008). Más aun, se han descrito regiones corticales sin una función específica y sectores como la corteza visual de roedores, sin un arreglo columnar distinguible (Horton y Adams, 2005). Es decir, no ha sido posible conciliar las propiedades fisiológicas neocorticales con sus características anatómicas, haciendo que el concepto clásico de columna cortical (que sin embargo ha permitido acceder a una gran cantidad de conocimiento respecto del palio de mamíferos) sea insuficiente como principio operacional organizador de la neocorteza en general (revisado en Da costa y Martin, 2010)

Como respuesta a la aparente falta de un patrón estructural que explique las características funcionales de la corteza, se ha propuesto el concepto de “circuito cortical canónico” (Douglas y Martin, 1991). Brevemente, la idea central aquí es la existencia de un circuito en el que participan diferentes tipos de neuronas, tanto intercorticales como intralaminares corticales. Este tipo de microcircuito sería común a través de todas las áreas de la neocorteza y permitiría “capturar” un tipo de conectividad básica que definiría el balance entre excitación e inhibición cortical (da Costa y Martin, 2010). Componentes reguladores de esta actividad derivarían de la distribución de las aferencias excitatorias talámicas e intracorticales sobre la capa IV, la cual a su vez proyecta a las capas II y III. Los autores consideran además la regulación de la actividad cortical a nivel de microcircuiteria por

parte de proyecciones recíprocas y excitatorias, entre las capas cortical superficiales y profundas (II/III y V).

Más allá de las características de conectividad específicas que tenga este sistema (dependiente de cada región cortical) es relevante destacar que esto se realiza a partir de circuitos recíprocos y organizados en una dimensión espacial específica, lo que define un eje particular en torno al cual se insertan las aferencias sensoriales talámicas. Aún en ratones con poco desarrollo de arquitectura columnar, se conserva la reciprocidad y ordenamiento vertical en relación a aferencias sensoriales (Larkman y Mason, 1990; Girman et al., 1999)

Estos antecedentes destacan, por sobre el concepto clásico de "columna" cortical, que lo conservado en la neocorteza de mamíferos es un arreglo estructural básico, el cual permitiría evaluar las propiedades fisiológicas de cada región cortical. A partir de nuestros resultados es posible sugerir que en aves, el DVR visual y auditivo posee una organización equivalente a lo propuesto por el modelo de "circuito canónico", compartiendo con aquel un patrón de conectividad similar, a partir de circuitos recíprocos y espacialmente alineados con el curso de las aferencias talámicas (auditivas y visuales). La conservación de este tipo de arreglo estructural en aves y mamíferos, puede estar ligada a la conservación de un tipo fisiología dependiente de operaciones recurrentes entre grupos de neuronas localizadas en distintos niveles (intralaminares en mamíferos; nido-mesopaliales en aves). Dicho de otra forma, lo conductualmente significativo puede ser la modulación por parte de las proyecciones talamocorticales de patrones de actividad palial recurrentes, que dependen de la (pre) existencia de circuitos de conectividad reciproca,

orientados en una dimensión espacial particular (para el DVR, dorso-ventral). En el caso de la corteza estriada de macaco, Adorjan y colaboradores (1999), por medio de registros de neuronas individuales, proponen un modelo que explica las preferencias a la orientación de un estímulo visual, dependiente de la organización de los circuitos intracorticales en base a la recurrencia entre grupos neuronales específicos. En este mismo contexto, da Costa y Martin (2010) sostienen que es posible la emergencia de la selectividad a la orientación de una estímulo visual desde la actividad de precursores talámicos que no poseen tal preferencia.

6. Apuntes sobre el desarrollo del palio de aves.

Hemos descrito la posibilidad de encontrar láminas sin una organización columnar clara (ej: *wults* de aves o corteza visual de ratón) y “columnas” sin láminas (ej: DVR visual). Según esto, es posible suponer que estos dos elementos anatómicos no se encuentran directamente ligados durante el desarrollo del palio en amniotas. En mamíferos, el establecimiento de láminas se determina ontogenéticamente más temprano que la especificación columnar, y tiene que ver esencialmente con mecanismos que modulan el tiempo y modo de división de los precursores neuronales, ubicados en la zona subventricular del palio temprano (Rakic, 2009). La formación de arreglos de conectividad recíproca y ordenada (columnas fisiológicas) en cambio, parece depender en mayor medida de la ocurrencia de procesos ontogenéticos que implican la participación de las aferencias talámicas. Es decir, como principio organizador, parece crítico el tipo de citoarquitectura palial que encuentren a su llegada las fibras talamocorticales (Pallas y Roe, 1990).

Considerando lo anterior, hemos explorado preliminarmente la organización palial en embriones de pollo, durante el periodo en que esta región es invadida por aferencias talámicas (E8-E10) (Striedter y Keefer, 2000). Observamos que en este estadio, el palio exhibe una organización de sus fibras (de origen glial o de neuronas inmaduras) de tipo radial (Figura 65). Es decir, en el momento de llegada de axones sensoriales talámicos, el palio de embriones de pollo exhibe una organización que es consistente con lo que hemos observado en pollos recién nacidos (P 1-P5). Según esto es posible suponer que, a su llegada, las aferencias rotundas “improntan” sensorialmente la región nidopalial, participando en la maduración de un tipo de circuito recurrente y verticalmente organizado. Este argumento se puede extender resto del colopalio sensorial.

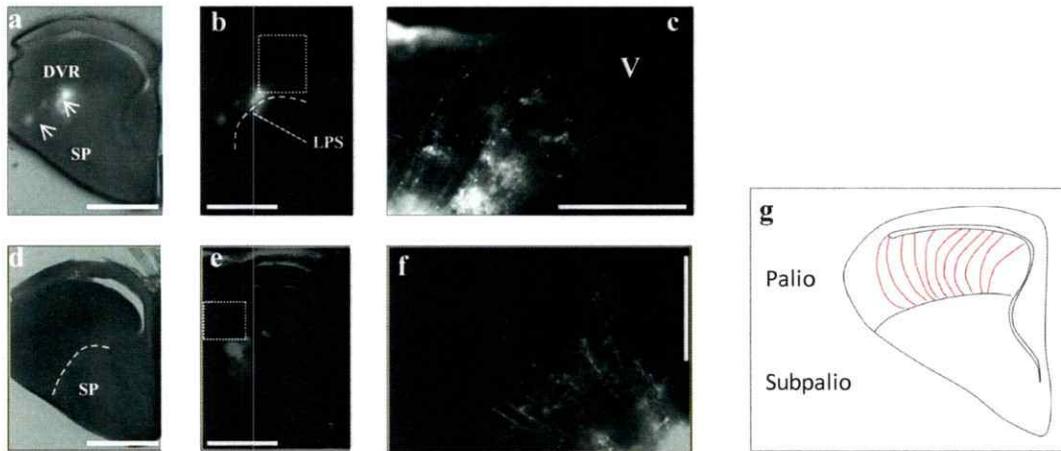


Figura 65

Organización del DVR en embriones pollo: En (a-c) se muestra una sección coronal (200 micrones de espesor) de telencéfalo de embrión de pollo (E 12), inyectado con cristales de DiI en la región ventral- medial del territorio palial temprano (flechas en **a**). En (**c**) se muestra un detalle del recuadro punteado en (**b**) en donde es posible apreciar la disposición de fibras (¿glías y/o axones?) que conectan la superficie ventricular (V) con el borde ventral (lamina palio-subpalial, LPS) del DVR

De manera equivalente (**d-f**) corresponde a un depósito manual de cristales de DiI en una sección gruesa de telencéfalo de pollo, en la región adyacente a la lamina palio-subpalial, pero a diferencia del caso anterior las inyecciones fueron localizadas en el sector lateral del palio temprano (recuadro punteado en **b**). Note en (**c**) y (**f**) que la disposición de las fibras es consistente con la orientación del sistema de proyecciones ento-mesopaliales, de acuerdo a lo que hemos descrito durante esta tesis. De manera preliminar se ofrece en (**g**) un esquema que representa estas observaciones.

Barra calibración: (a-b /d-e : 1.25 mm; c y f: 500 micrones)

7. Epilogo:

El nivel de flexibilidad conductual y capacidad de aprendizaje de las aves se ha relacionado con el grado de desarrollo cerebral, variable a través de este grupo de vertebrados (Iwaniuk et al., 2005). Los cuervos (passeriformes) son un ejemplo de habilidades visuales y aún cognitivas que han sido comparadas con aquellas de mamíferos (Mehlhorn et al., 2010). Se ha descrito que estas aves poseen un mayor tamaño relativo de la región cerebral anterior, formada por un complejo nido-mesopallial. Esta región, por su participación en la integración de múltiples circuitos cerebrales (incluidos aquellos de tipo sensorial), ha sido comparada con la corteza pre frontal de mamíferos (Diekamp et al., 2002). Es posible imaginar que las regiones de integración palial de aves, posean un tipo de organización al menos similar o equivalente a lo que hemos descrito en esta tesis, para el caso del DVR sensorial colorecipiente.

Sin embargo, la posibilidad de realizar y profundizar en un determinado tipo de comparación neuroanatómica entre grupos o linajes diferentes, depende de la cantidad y calidad del conocimiento disponible en cada caso. En este sentido, valoramos lo hecho durante esta tesis puesto que hemos contribuido a elevar el nivel de conocimiento respecto de la organización del palio de aves, revelando un tipo de complejidad estructural que es consistente con las elaboradas conductas perceptuales que exhiben estos animales.

Sintéticamente, hemos verificado la equivalencia de la organización del DVR visual y auditivo. A su vez, estas regiones comparten características estructurales con las respectivas regiones colorecipientes neocorticales de mamíferos. Por un lado, ambos sistemas representan la región de destino de las proyecciones colofugales. Por otro lado existen

patrones similares de conectividad reciproca y ordenada, entre grupos de neuronas localizadas en más de un nivel dentro de cada una de estas regiones sensoriales. Todo esto apoya la idea de conservación de un patrón de conectividad básico asociado a las proyecciones sensoriales en amniotas, por sobre la idea de una transformación radical de estas proyecciones como consecuencia del establecimiento de la organización neocortical laminar en mamíferos.

Referencias

- Abeles., Moshe., Goldstein, Moise H., Jr. 1970. Functional architecture in cat primary auditory cortex: Columnar organization and organization according to depth. *Journal of Neurophysiology*. Vol. 33(1): pp 172-187.
- Aboitiz F. , Morales D, Montiel J. 2003. The evolutionary origin of the mammalian isocortex: towards an integrated Evolution of the Pallium in Birds and Reptiles Developmental and functional approach. *Behav Brain Sciences* 26:535–552.
- Aboitiz F. 1999. Comparative Development of the Mammalian Isocortex and the Reptilian Dorsal Ventricular Ridge. *Evolutionary Considerations Cerebral Cortex* Vol. 9 (8): pp 783-791.
- Aboitiz F. 2011. Genetic and developmental homology in amniote brains. Toward conciliating radical views of brain evolution. *Brain Research Bulletin* Volume 84(2): pp 125-136.
- Adorjan, Levitt J. B., Lund J.S., Overmayer K.1999. A model for the intracortical origin of orientation preference and tuning in macaque striate cortex. *Visual Neuroscience*. 16; pp 303–318.
- Agmon A., Yang L. O'Dowd D., Jones E. 1993. Organized Growth of Thalamocortical Axons from the Deep Tier of Terminations into Layer IV of Developing Mouse Barrel Cortex. *Journal of Neuroscience*. 73(12): pp 5365 – 5362.
- Alpar A, Tombol T. 2000. Efferent connections of the ectostriatal core. An anterograde tracer study. *Anat Anz* 182:pp 101–110.
- Bagnoli, Burkhalter, 1983 Organization of the afferent projections to the Wulst in the pigeon. *The Journal of Comparative Neurology*. Vol.214 (1): pp 103–113
- Bruce LL., Neary TJ. 1995. The limbic system of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar populations. *Brain Behav Evolution*. 46: pp 224–234.
- Baldwin MKL., Wong P., Reed JL, Kaas J.H. 2011. Superior colliculus connections with visual thalamus in gray squirrels (*Sciurus carolinensis*): evidence for four subdivisions within the pulvinar complex. *Journal of Comparative Neurology*. 519: pp1071–1094.
- Benowitz LI, Karten HJ. 1976. Organization of the tectofugal pathway in the pigeon: a retrograde transport study. *Journal of Comparative Neurology*. 167: pp 503–520.

Bessete B., Hodos W. 1989. Intensity, color, and pattern discrimination deficits after lesions of the core and belt regions of the ectostriatum. *Visual Neuroscience*. 2: pp 27-34.

Belekhova M., Kenigfest N., Rio J., Repérant J., Ward N., Vesselkin O., Karamian. 2003. Tectothalamic visual projections in turtles: Their cells of origin revealed by tracing methods. *Journal of Comparative Neurology*. Vol. 457(1): pp 37–56.

Butler AB. 1994. The evolution of the dorsal pallium in the telencephalon of amniotes, including mammals: cladistic analysis and a new hypothesis. *Brain research reviews*. 19 : pp 66-101.

Butler AB, Molnar Z. 2002. Development and evolution of the collopallium in amniotes: a new hypothesis of field homology. *Brain Res Bulletin*. 57: pp 475–479.

Butler AB. Reiner A., Karten H. J. 2011. Evolution of the amniote pallium and the origins of mammalian Neocortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol.1225(1): pp 14–27.

Butler AB., Rodney M. J. Cotterill. 2006. Mammalian and Avian Neuroanatomy and the Question of Consciousness in Birds. : *Biol. Bull*. 211: pp 106-127.

Chalupa, Werner. 2004. The visual neurosciences. *Capitulo IV*; pp: 494-540. MIT press.

Csillag y Montagnese. 2005. Thalamotelencephalic organization in birds. *Brain Research Bulletin*. Volume 66: pp 303-310.

Da Costa NM, Martin A.C. 2010. Whose cortical column would that be?. *Frontiers in Neuroanatomy*. Vol. 4 (16); pp 1- 10.

Daisley J.N., Mascalzoni E, Rosa-Salva O., Rugani R., Regolin R. 2009. Lateralization of social cognition in the domestic chicken (*Gallus gallus*) *Phil. Trans. R. Soc. B* 12 vol. 364 (1519): pp 965-981.

Dávila J., Andreu M., Real M.A., Puelles L., Guirado S., 2002. Mesencephalic and diencephalic afferent connections to the thalamic nucleus rotundus in the lizard, *Psammotomus algirus* . *European Journal of Neuroscience*, Vol. 16; pp 267-282

Diekamp B., Gagliardo A., Güntürkün O. 2002. Nonspatial and Subdivision-Specific Working Memory Deficits after Selective Lesions of the Avian Prefrontal Cortex. *Journal of Neuroscience*; 22(21); pp 9573-9580.

Doron N., Ledoux J.E. 1999. Organization of Projections to the Lateral Amygdala From Auditory and Visual Areas of the Thalamus in the Rat. *Journal of Comparative Neurology* 412: pp 383–409.

Douglas, R. J., and Martin, K. A. 1991. A functional microcircuit for cat visual cortex. *Journal of Physiology*. 440: pp 735–769.

Dubbeldam, 1993. Brain organization and behavior. *Acta Biotheoretica*. 41: pp 469-479.

Dubbeldam J. L. , Visser A.M. 1984.The organization of the nucleus basalis—neostriatum complex of the mallard (*anas platyrhynchos* L.) and its connections with the archistriatum and the paleostriatum complex. *Neuroscience*. Volume 21(2): pp 487-517.

Engelage J., Bischof H. J. 1989 Flash evoked potentials in the ectostriatum of the zebra finch:a current source-density analysis. *Exp Brain Research*. 74: pp 563-572

Frost B., Wylie D.R., Wang Y-C. 1990. The processing of object and self-motion in the tectofugal and accessory optic pathways of birds *Vision Research*. Vol. 30 (11): pp 1677-1688

Fredes F, Tapia S, Letelier JC, Marín G, Mpodozis J. 2010. Topographic Arrangement of the Rotundotopallial Projection in the Pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. Vol.518; pp 4342–4361.

Fredes F, Vega-Zuniga T, Karten H, Mpodozis J. 2011. Bilateral and ipsilateral ascending tecto-pulvinar pathways in mammals: A study in the Squirrel (*Spermophilus beecheyi*). *Journal of Comparative Neurology*. Vol.518; pp 4342– 4361.

Fortune ES, Margoliash D. 1992. Cytoarchitectonic organization and morphology of cells of the field L complex in male zebra finches(*Taenopygia guttata*). *Journal of Comparative Neurology*. 325; pp 388–404.

Frost D., Caviness V.S. 1980. Radial organization of thalamic projections to the neocortex in the mouse. *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 194 (2): pp 369–393.

Frost B. J., Wylie D. R., Wang Y. C. 1990. The processing of object and self-motion in the tectofugal and accessory optic pathways of birds. *Vision research* 30; pp 16677-1688.

Gamlin P., Cohen D.1986. A second ascending visual pathways from the optic tectum to the telencephalon in pigeon (*columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 250; pp 296-310.

Gilbert C. Wiesel,1989. Columnar Specificity of Intrinsic Horizontal and Corticocortical Connections in Cat Visual Cortex. *Journal of Neuroscience*. (7): pp 2432-2442.

Girman S., Sauvé Y., Lund RD. 1999. Receptive Field Properties of Single Neurons in Rat Primary Visual Cortex . *Journal of Neurophysiology*. Vol. 82 (1): pp 301-311.

Guirado S., Dávila J., Real M., Medina L. 2000. Light and electron microscopic evidence for projections from the thalamic nucleus rotundus to targets in the basal ganglia, the dorsal ventricular ridge, and the amygdaloid complex in a lizard. *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 424 (2): pp 216–232.

Guirado S, Real MA, Davila JC. 2005. The ascending tectofugal visual system in amniotes: new insights. *Brain Res Bull* 66(4-6); pp290-296.

Güntürkün O., Kröner S. 1999. A polysensory pathway to the forebrain of the pigeon: The ascending projections of the nucleus Dorsolateralis Posterior Thalami (DLP). *European Journal of Morphology*. Vol. 37, Nos. 2, 3, pp. 185–189

Hellmann B., Gunturkun O. 2001. The structural organization of parallel information processing within of the tectofugal visual system of the pigeon. *Journal of Comparative Neurology*. 429: pp 94-112.

Hodos W, Butler A. 2005. *Comparative vertebrate neuroanatomy*. (ed)

Hodos W, Karten HJ . 1974. Visual Intensity and Pattern Discrimination Deficits after Lesions of the Optic Lobe in Pigeons. *Brain, Behavior and Evolution* . Vol. 9 (3) : pp 165–179

Hubel y Wiesel, 1962. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology*. 160: pp 106-154.

Hubel, D. H., and Wiesel, T. N. 1969. Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature* 221; pp 747–750.

Husband SA., Shimizu T. 1999. Efferent projections of the ectostriatum in the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 406: pp 329–345.

Huang C., Winer H. 2000. Auditory Thalamocortical Projections in the Cat: Laminar and Areal Patterns of Input. *Journal of Comparative Neurology*. 427: pp 302–331.

Iwaniuk A., Hurd P. 2005. The Evolution of Cerebrotypes in Birds. *Brain Behav Evolution*. 65: pp 215–230

Jones , Wise. 1977. Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 175(4): pp 391–437.

Jarvis ED, Güntürkün O, Bruce L, Csillag A, Karten H, Kuenzel W, Medina L, Paxinos G, Perkel DJ, Shimizu T, Striedter G, Wild JM, Ball GF, Dugas-Ford J, Durand SE, Hough GE, Husband S, Kubikova L, Lee DW, Mello CV, Powers A, Siang C, Smulders TV, Wada K, White SA, Yamamoto K, Yu J, Reiner A, Butler AB. 2005. Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution. *Nat Rev Neuroscience*. 6: pp 151–159.

Karten HJ. 1967. The organization of the ascending auditory pathway in the pigeon (*Columba livia*) Diencephalic projections of the inferior colliculus (nucleus mesencephali lateralis, pars dorsalis). *Brain Res*. 6: pp 409-427.

Karten HJ. 1968. The ascending auditory pathway in the pigeon (*Columba livia*). Telencephalic projections of the nucleus ovoidalis thalami. *Brain Research*. 11; pp 134-153.

Karten HJ. 1969. The organization of the avian telencephalon and some speculations on the phylogeny of the amniote telencephalon. *Annals of N.Y. Acad. Sci*. 167; pp 164-179.

Karten HJ., Hodos W. 1967. A stereotaxic atlas of pigeon brain (*Columba livia*). Baltimore: Johns Hopkins Press.

Karten HJ., Hodos W., Nauta W., Alvin M. 1973. Neural connections of the “visual wulst” of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 150(3): pp 253–277.

Karten HJ., Hodos W. 1970. Telencephalic projections of the nucleus rotundus in the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 140; pp 35–51.

Karten HJ., Cox K, Mpodozis J. 1997. Two distinct populations of tectal neurons have unique connections within the retinotectoretundal path-way of the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 387; pp 449–465.

Kass J. 2000. Why is Brain Size so Important: Design Problems and Solutions as Neocortex Gets Bigger or Smaller. *Brain and Mind*. 1: pp 7–23

Korzeniewska E. 1987. Multisensory convergence in the thalamus of the pigeon (*Columba livia*). *Neuroscience Letters*. 80: pp 55-60

Korzeniewska, Gunturkun O., 1990. Sensory properties and afferents of the N. Dorsolateralis posterior thalami of the pigeon. *Journal of Comparative Neurology*. 292: pp 457-479.

Krubitzer L., Kaas J. 2005. *Current Opinion in Neurobiology*. 15: pp 444–453.

Kroner S., Gunturkun O. 1999. Afferent and Efferent Connections of the Caudolateral Neostriatum in the Pigeon (*Columba livia*): A Retro- and Anterograde Pathway Tracing Study. *Journal of Comparative Neurology*. 407: pp 228–260.

Krutzfeldt NOE, Wild JM. 2004. Definition and connections of the entopallium in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *Journal of Comparative Neurology*. 468: pp 452–465.

Krützfeldt NO, Wild JM. 2005. Definition and novel connections of the entopallium in the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 490; pp 40–56.

Larkman y Mason, 1990. Correlations Between Morphology and Electrophysiology of Pyramidal Neurons in Slices of Rat Visual Cortex.II. Electrophysiology. *Journal of Neuroscience*. 70(5): pp 1415-1428.

Laverghetta, Shimizu T. 2003; Organization of the ectostriatum based on afferent connections in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*) *Brain Research*. Vol. 963 (1-2); 14: pp 101-112

LeDoux J Farb C., Ruggiero D.A. 1990.Topographic Organization of Neurons in the Acoustic Thalamus That Project to the Amygdala *Journal of Neuroscience*. (4): pp 1043-1054.

Lee DW., Mello CV, Powers A, White SA, Hough G, Kubikova L, Smulders TV, Wada K, Dugas-Ford J, Husband S,Yamamoto K, Yu J, Siang C, Jarvis ED (2004) Revised nomenclature for avian telencephalon and some related brainstem nuclei. *Journal of Comparative Neurology*. 473: pp 377–414.

Luksch H, Cox K, Karten HJ. 1998. Bottlebrush dendritic endings and large dendritic fields: motion-detecting neurons in the tecto-fugal path-way. *Journal of Comparative Neurology*. 396; pp 399–414.

Luksch H. 2003. Cytoarchitecture of the avian optic tectum: neuronal substrate for cellular computation.*Rev Neuroscience*. 14: pp 85–106.

Lund JS. 1988. Anatomical Organization of Macaque Monkey Striate Visual Cortex. *Annual Review of Neuroscience*. Vol. 11: pp 253-288.

Lund JS., Boothe J., 1975. Interlaminar connections and pyramidal neuron organisation in the visual cortex, area 17, of the Macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 159, (3); pp 305–334.

Lund JS., Hendrickson A. E., Ogren M. P., Tobin E.A. 1981. Anatomical Organization of Primate Visual Cortex Area VII. *The Journal of Comparative Neurology*. 202; pp 19-45.

Lund JS. Yoshioka T., Levitt J. 1993. Comparison of Intrinsic Connectivity in Different Areas of Macaque Monkey. *Cerebral Cortex*; 3: pp 148-162

Major DE, Luksch H, Karten HJ. 2000. Bottlebrush dendritic endings and large dendritic fields: motion-detecting neurons in the mammalian tectum. *Journal of Comparative Neurology*. 423(2): pp 243-260.

Manger P.R., Slutsky D., A., Molnár Z. 2002. Visual subdivisions of the dorsal ventricular ridge of the iguana (*Iguana iguana*) as determined by electrophysiologic mapping. *Journal of Comparative Neurology*. Vol. 453 (3): pp 226-246.

Marín G., Letellier JC, Henny P, Sentis E, Farfan G, Fredes F, Pohl N, Karten H, Mpodozis J. 2003. Spatial organization of the pigeon tectorotundal pathway: an interdigitating topographic arrangement. *Journal of Comparative Neurology*. 458(4); pp 361-380.

Marín G., Henny P, Letellier JC, Sentis E, Karten H, Mrosko B, Mpodozis J. 2001. A simple method to microinject solid neural tracers into deep structures of the brain. *J Neurosci Methods* 106; pp 121-129.

Martínes – Marcos, Font C., Lanuza E., Martínes – García F., 1998. Ascending projections from the optic tectum in the lizard *Podarcis hispanica*. *Visual Neuroscience*. 15; pp 459-475.

Medina L, Reiner A. 2000. Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? *Trends Neurosciences* 23: pp 1-12.

Mehlhorn J., Hunt G. R., Gray R., Rehkämper G., Güntürkün O. 2010. Tool-Making New Caledonian Crows Have Large Associative Brain Areas. *Brain Behav Evolution*. 75: pp 63-70

Molnár Z., Butler AB. 2002. The corticostriatal junction: A crucial region for forebrain development and evolution. *BioEssays*. Vol. 24 (6): pp 530-541.

Mountcastle, V. B., Berman, A. L., y Davies, P. W. 1955. Topographic organization and modality representation in first somatic area of cat's cerebral cortex by method of single unit analysis. *Am. J. Physiology* 183: pp 646.

Mountcastle, V. B. 1957. Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J. Neurophysiology*. 20; pp 408-434.

Mountcastle, V. B. 1997. The columnar organization of the neocortex. *Brain*. 120; pp 701-722.

Mpodozis J., Cox, K., Shimizu, T., Bischof, H.-J., Woodson, W., and Karten, H.J. (1996). GABAergic inputs to the nucleus rotundus (pulvinar inferior) of the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology*. 374:204-222

Ngo T.D. Davies D.C., Egedi D.Y. Tombol T. 1994. A Phaseolus lectin anterograde tracing study of the tectorotundal projections in the domestic chick. *Journal of Anatomy*. 184: pp 129-136.

Nieuwenhuys, 1998.H. J. ten Donkelaar, and C. Nicholson , *The Central Nervius System of Vetrebrates* (ed). Tomo III.

Northcutt RG. 1981. Evolution of the Telencephalon in Nonmammals *Annual Review of Neuroscience*. Vol. 4: pp 301-350

Northcutt G. 2002. Understanding Vertebrate Brain Evolution. *Integrative and Comparative Biology*. 42: pp 743-756.

Northcutt GR., Butler AB. 1974. Evolution of reptilian visual systems: Retinal projections in a nocturnal lizard, *Gekko gecko* (linnaeus). *The Journal of Comparative Neurology*. Vol. 157(4): pp 453-465.

Ogren MP, Hendrickson AE, 1977. The distribution of pulvinar terminals in visual areas 17 and 18 of the monkey. *Brain Research*, 137(2): pp 343-50.

Pettigrew J., Konishi 1976. Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual Wulst of the barn owl (*Tyto alba*). *Science*. Vol. 193 (4254): pp 675-678.

Reiner A, Perkel DJ, Bruce LL, Butler AB, Csillag A, Kuenzel W, Medina L, Paxinos G, Shimizu T, Striedter G, Wild M, Ball GF, Durand S, Gütürkün O, Shimizu T, Bowers AN. 1999. Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behav Brain Res* 98:183–191.

Rakic P. 2008. Confusing cortical columns. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: pp 12099–12100.

Rakic P. 2009. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nature Reviews Neuroscience*. 10: pp 724-735.

Horton J., Adams C. 2005. The cortical column: a structure without a function. *Phil. Trans. R. Soc. B. Vol. 360 (1456)*: pp 837-862.

Roe A., W., Pallas S.L., JO Hahn, M Sur. 1990. A map of visual space induced in primary auditory cortex Vol. 250 (4982): pp. 818-820.

Rugani R., Regolin R., Vallortigara G. 2011. Summation of large numerosness by newborn chicks. *Frontiers in Psychology*. Vol.2 (179): pp 1-8.

Scheich, H. 1983. Two columnar systems in the auditory neostriatum of the chick: Evidence from 2-deoxyglucose. *Exp. Brain Res*. 51: pp 199-205.

Shimizu T., Patton T., Husband S. 2010. Avian Visual Behavior and the Organization of the Telencephalon. ; *Brain Behav Evol*. 75:pp 204–217

Striedter GF. 1997. The telencephalon of tetrapods in evolution. *Brain Behav Evol* 49: pp 179–213.

Striedter GF., Keefer B. 2000. Cell Migration and Aggregation in the Developing Telencephalon: Pulse-Labeling Chick Embryos with Bromodeoxyuridine. *Journal of Neuroscience*, 20 (21):pp 8021-8030.

Tombol T, Maglóczy Z, Stewart MG, Csillag . 1988. A The structure of chicken ectostriatum. I. Golgi study. *Journal fur Hirnforschung*; 29(5): pp 525-46.

Veenman C.L, Wild J. M., Reiner A. 1995. Organization of the avian "corticostratial" projection system: A retrograde and anterograde pathway tracing study in pigeons. *Journal of Comparative Neurology*. Vol. 354(1): pp 87–126.

Wang Y, Brzozowska-Prechtl A, Karten HJ. 2010. Laminar and columnar auditory cortex in avian brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: pp 12676–12681.

Wang Y., Luksch H., Brecha N., Karten HJ. 2006. Columnar Projections from the Cholinergic Nucleus Isthmi to the Optic Tectum in Chicks (*Gallus gallus*): A Possible Substrate for Synchronizing Tectal Channels. *Journal Of Comparative Neurology*. 494: pp 7–35.

Watanabe M., Ito H., Ikushima M., 1986. Citoarchitecture and ultrastructure of the avian ectostriatum: afferent terminals from the telencephalon and some nuclei in the thalamus. *Journal of comparative neurology*. 236: pp 241-257.

Watanabe S., Mayer U., Bishof H-J., 2011. Visual Wulst analyses “where” and entopallium analyses “what” in the zebra finch visual system. *Behavioural Brain Research*; 222: pp 51–56.

Weiss S., Hodos W., 1986 Discrimination of Mirror-Image Stimuli after Lesions of the Visual System in Pigeons. *Brain Behav Evol* 29: pp 207-222.

Wild JM, Arends J.J.A., Zergler H.P. 1985. Telencephalic Connections of the Trigeminal System in the Pigeon (*Columba livia*): A Trigeminal Sensorimotor Circuit. *Journal of Comparative Neurology*. Vol. 234: pp 441-464.

Wild JM. 1987. Thalamic projections to the palaeostriatum and neostriatum in the pigeon. *Neuroscience*. 20: pp 305-327.

Wild JM., Karten H., Frost B. 1993. Connections of the Auditory Forebrain in the Pigeon. *Journal of comparative neurology*. 337: pp 32-62.

Wild JM., Farabaugh S.M. 1996. Organization of afferent and efferent projections of the nucleus basalis prosencephali in a passerine, *Taeniopygia guttata*. *Journal of Comparative Neurology*. Volumen 365(2): pp 306–328.

Apéndice: Figuras complementarias

+

7

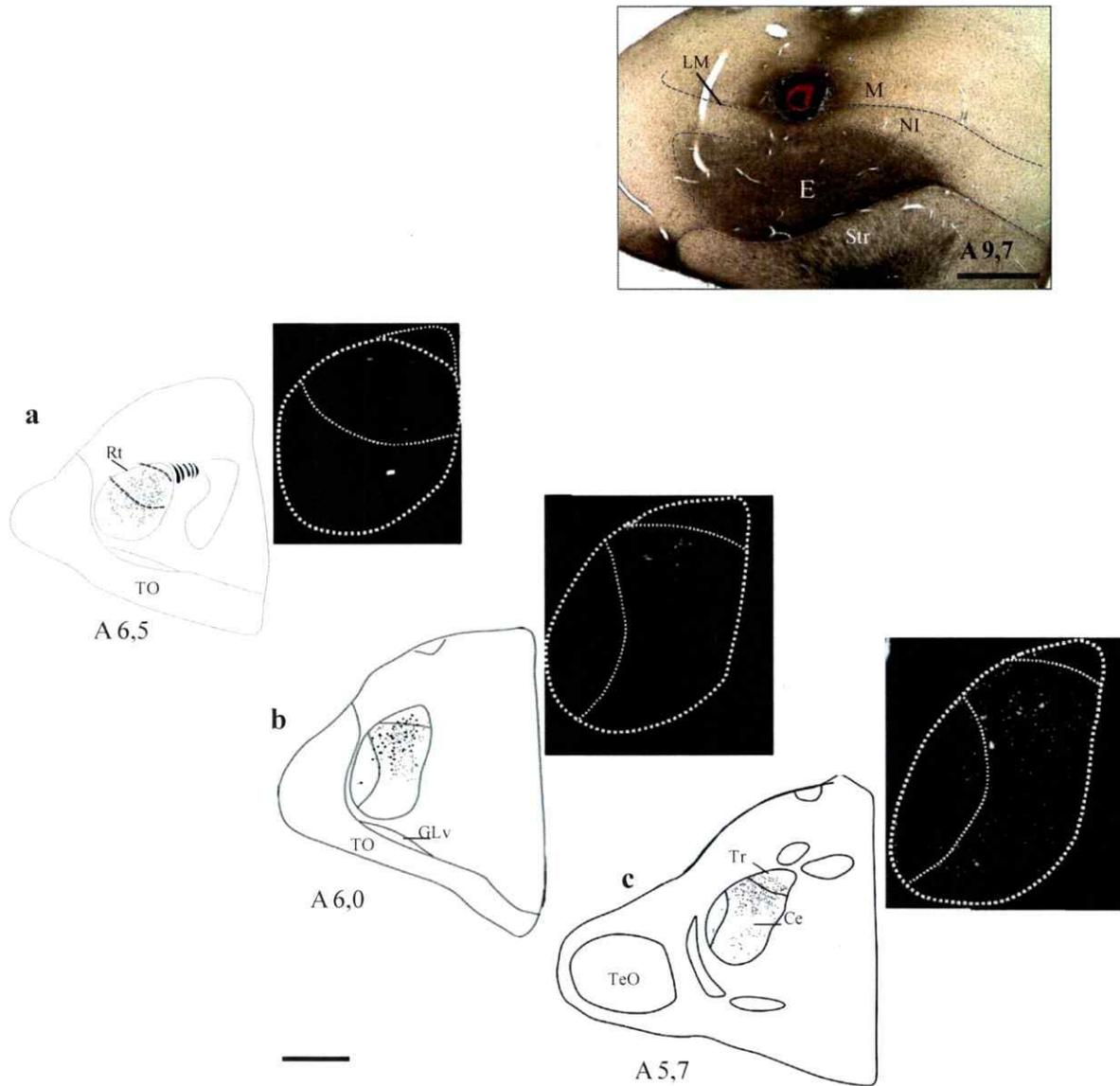


Figura 16b

Proyección rotundal al nidopallio intermedio (NI) anterior: (a) - (c): Diagrama de una serie rostro-caudal del tálamo de paloma, indicando el resultado de una inyección de Dil en la región límite entre el entopallio (E) y el mesopallio (M)(A 9,7). Observamos células rotundas retrógradamente marcadas principalmente en las subdivisiones dorsal anterior (Da) y centralis (Ce). Las subdivisiones triangularis (Tr) y posterior (Post) resultaron levemente comprometidas. Cada recuadro con la imagen de fluorescencia corresponde al nivel presentado en cada esquema (a-c). Este resultado sugiere que axones rotundos invaden la región del nidopallio intermedio (NI).

Str, estriado; NI: nidopallio intermedio; M, mesopallio; LM, lamina mesopallial.

Figura correspondiente al caso 23, tabla 1. Barras de calibración: 1,0 mm.

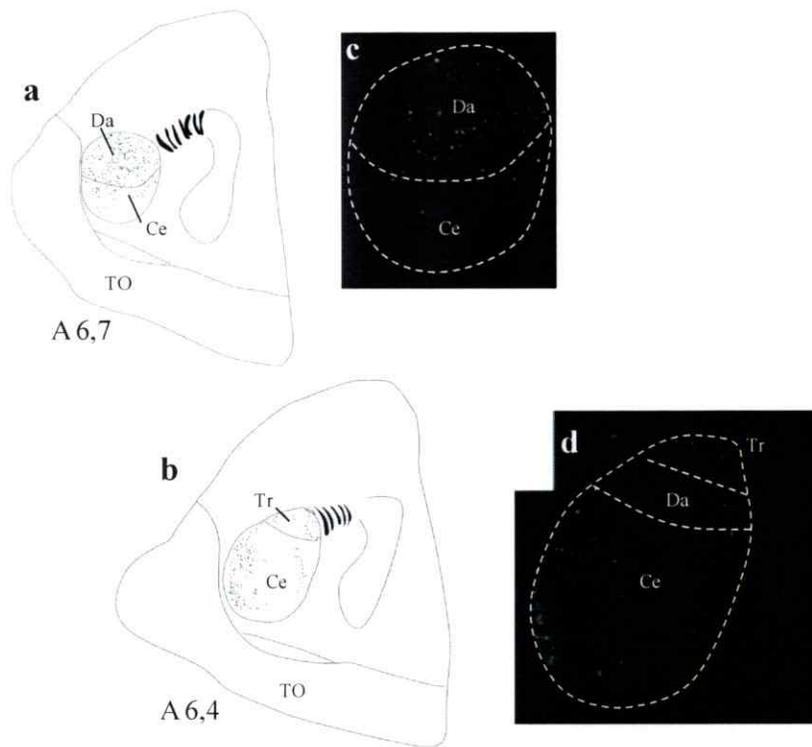
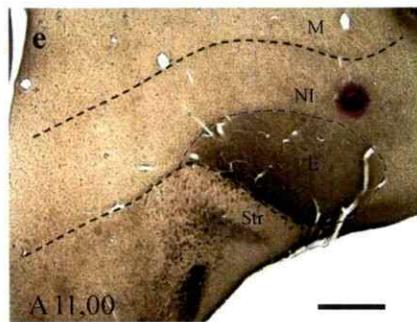


Figura 17b

Proyección rotundal al nidopalio intermedio (NI) anterior: Diagramas (series rostro-caudales) de tres animales distintos donde se encontró grupos de neuronas rotundales retrógradamente marcadas luego de inyectar distintos sectores del nidopalio intermedio. La marca retrógrada incluye las subdivisiones dorsal anterior (Da), triangularis (Tr) y parte de centralis (Ce). Figura correspondiente al caso 8, tabla 1. M: mesopalio; HP: hiperpalio. Barras de calibración: 1,0 mm.

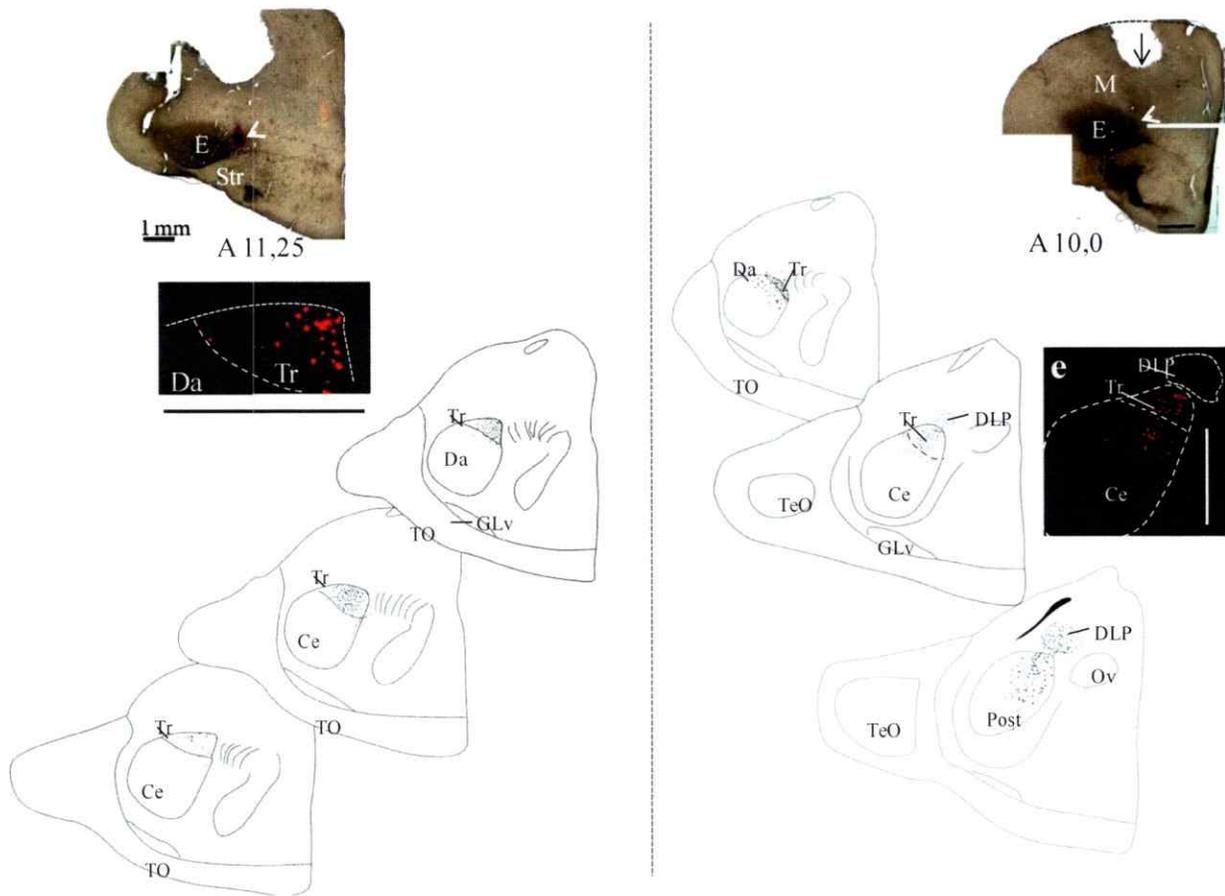


Figura 26b

Región nidopial terminal de triangularis y DLP: Se muestran dos casos de inyecciones en la zona medial del entopalio. La posición de la inyección varía principalmente respecto de la coordenada rostro-caudal (A11, 25 vs A 10,0). El panel de la izquierda muestra la imagen de la inyección (anterior) y el esquema de la serie rostro-caudal del tálamo de paloma correspondiente. En este caso, se encontraron neuronas rotundas retrógradamente marcadas casi exclusivamente en las subdivisión triangularis (Tr). En el caso de la inyección mas posterior (derecha) el patrón de marca retrógrado incluyó, además de Tr, la región de DLP (recuadro e). Estos casos permiten comparar y sugerir que la región nidopial recipiente de Tr y DLP se encuentran próximas, difiriendo principalmente en la dimensión rostro-caudal.

M: mesopalio; HP: hiperpalio. Barras de calibración: 1,0 mm.

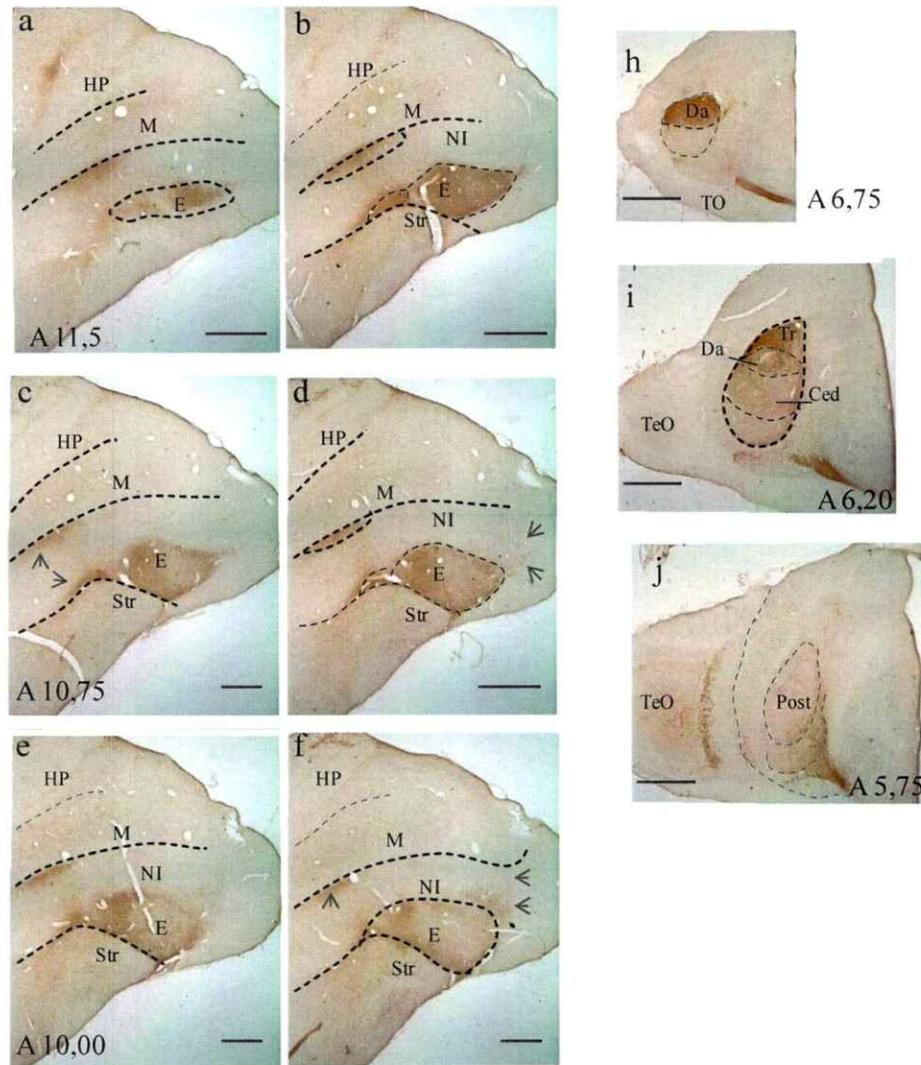


Figura 21b

Topografía medio-lateral de la proyección rotundus-nidopalis visual: (a)-(f): Serie coronal rostro-caudal, mostrando el resultado a nivel nidopalial de una inyección de CTB centrada en el núcleo rotundus, que incluyó las subdivisiones dorsal-anterior (Da), triangularis (Tr) y débilmente la parte dorsal de centralis (Ced) (j). El patrón anterogrado muestra más intensamente marcado en entopalis (E) anterior (a-d) y parte del entopalis central (e y f). Note además, la presencia de regiones terminales en el nidopalis intermedio (NI) lateral y medial (cabezas de flecha). Este resultado confirma que la localización de la región terminal de triangularis corresponde a la zona medial entopalial más una banda terminal fina adyacente a la lamina mesopalial (cabeza de flecha en c). En la región del nidopalis intermedio, lateral y dorsal al entopalis, es posible observar la presencia de una región terminal, que confirma la presencia de fibras rotundas que invaden el NI. HP, hiperpalio; M, mesopalis; NI, nidopalis intermedio; Str, estriado; TeO, tectum óptico; Barras de calibración: 1 mm.

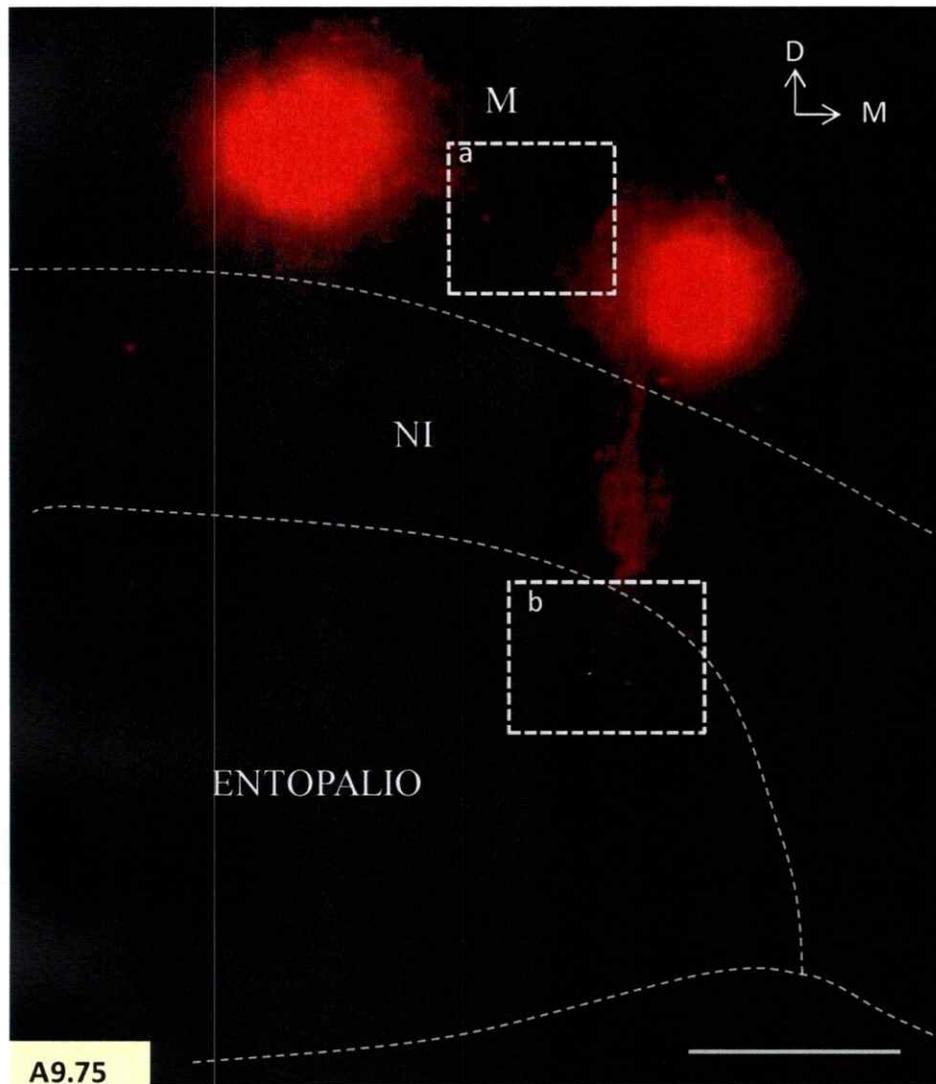


Figura 37

Proyección mesopalio-entopalio: Composición de imágenes de fluorescencia confocales mostrando el resultado de dos inyecciones de DiI en la región del mesopalio. Es posible observar a partir de cada sitio inyectado, un sistema de fibras dirigidas hacia la región del entopalio (E) (sugerido en líneas punteadas). Celulas retrógradamente marcadas se distinguen en la zona más dorsal de E (b). No es posible determinar con claridad la zona terminal dentro del entopalio, debido a que parte de la proyección resulto afectada durante el seccionamiento del cerebro. Además se destaca (a) fibras que comunican ambos sitios de inyección. Barra de calibración: 500 micrones.

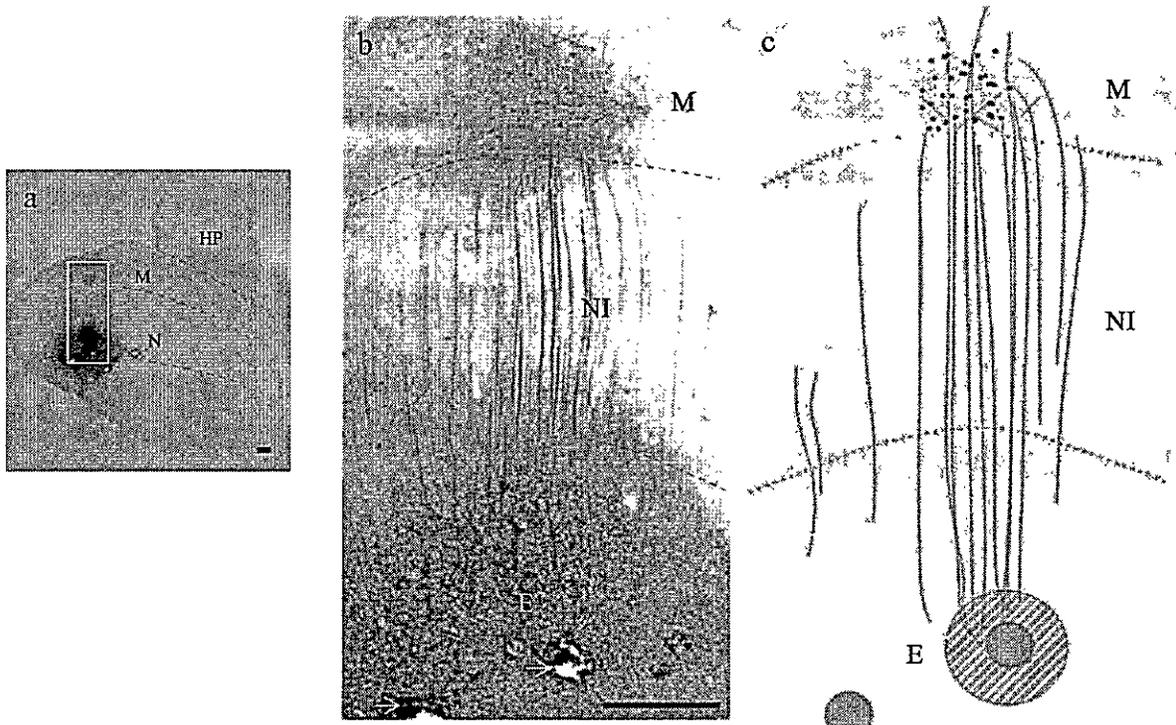


Figura 40 b

Inyección doble en entopalo anterior: (a): Imagen de una "columna" medial en el DVR anterior de pollo, inyectado (doblemente) con biocitina en la región del entopalo rostral (flechas blancas en b). (b): Detalle del sistema de las fibras que atraviesan el nidopalo intermedio (NI) y conectando el entopalo con el mesopalo (M). Note la presencia de una región terminal y células marcadas retrógradamente en el mesopalo. (c): esquema representativo de la disposición espacial de los principales elementos (células y fibras) presentes en (b). Los sitios de inyección se representan en círculos achurados. El sitio central se localizo en el sector DC, según la figura 34. Barra de calibración (a) y (b): 300 micrones

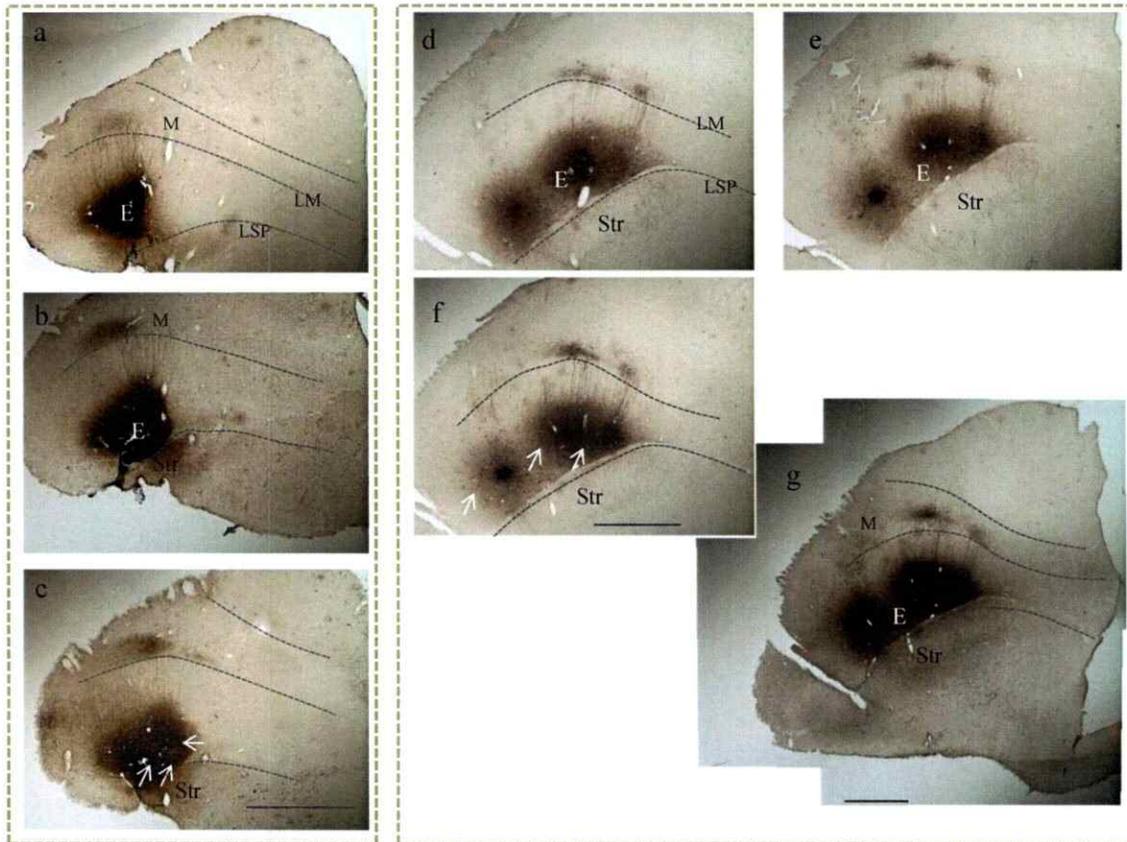


Figura 43

Topografía rostro-caudal de la proyección ento-mesopialial. (a) – (c): Serie coronal rostro-caudal de telencéfalo anterior de pollo. Se muestra el resultado de tres inyecciones de cristales de biocitina (flechas en c), en la región del entopalio (E) anterior (nidopalio visual anterior). Note el sistema de proyecciones que conecta el entopalio con el mesopalio. (d) – (g): Serie coronal rostro-caudal de telencéfalo central-posterior de pollo mostrando el resultado de una inyección triple de cristales de biocitina, en el entopalio medial (flechas en f). Note el sistema de proyecciones que conecta cada sitios de inyección con zonas puntuales dentro del mesopalio. Ambos casos confirman que el sistema de proyecciones que conecta el entopalio y el mesopalio se expande a través del eje rostro-caudal del telencéfalo. (Barra de calibración (a/c y f/g) 1mm

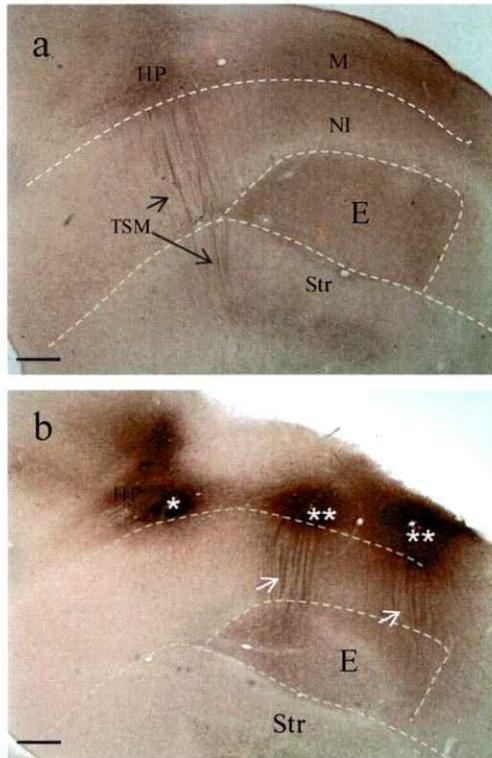


Figura 47

Especificidad en el sistema entopalio-mesopalio: (a) y (b), dos rebanadas consecutivas de cerebro de pollo obtenidas a partir de una sección gruesa (1 mm) de telencéfalo, inyectada con tres cristales de biocitina en la región del Wulvs (HP) (*) y mesopalio (M).(**). (a): Sección más anterior mostrando fibras correspondientes al tracto que comunica el wulvs (TSM) con regiones extratelencefálicas. Como se puede observar (flechas negras), este tracto bordea el entopalio anterior y medial, cursando a través del estriado (b): A partir de los dos sitios de inyección en el mesopalio (M), es posible distinguir procesos que conectan esta región con el entopalio (E). NI: nidopalio intermedio; Str: estriado; HP: hiperpalio; TSM: Tracto Septo Mesencefálico. Barra calibración :350 micrones.

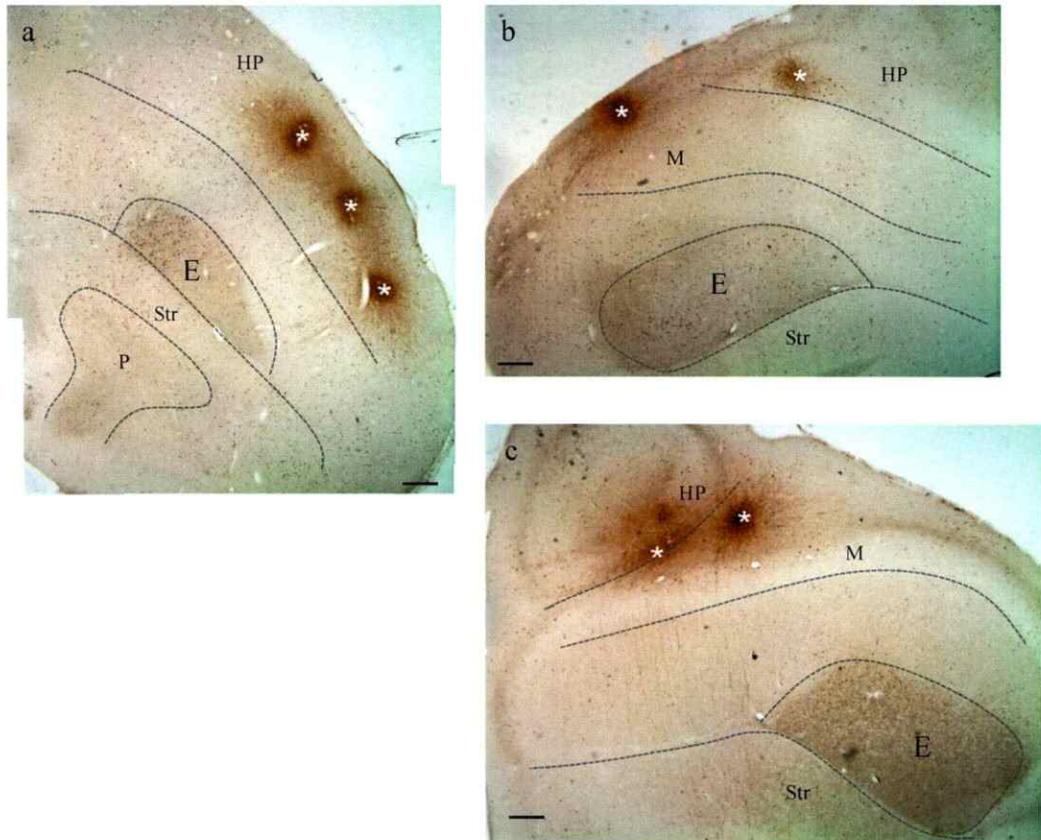


Figura 48

Especificidad en el sistema entopallio-mesopallio: Para confirmar la especificidad de la organización del sistema colopallial realizamos inyecciones controles en distintas áreas del telencéfalo de pollo (asteriscos). **(a)** inyecciones en la limite mesopallio-hiperpallio (HP) en un plano sagital. **(b):** Inyecciones en el palio dorso-lateral (palio externo) y medial (HP) en un plano coronal. **(c)** Inyecciones en el hiperpalio (medial). Ninguno de estos casos muestra un patrón de conectividad comparable al descrito en el sistema entopallio/mesopallio. Barra calibración :300 micrones.

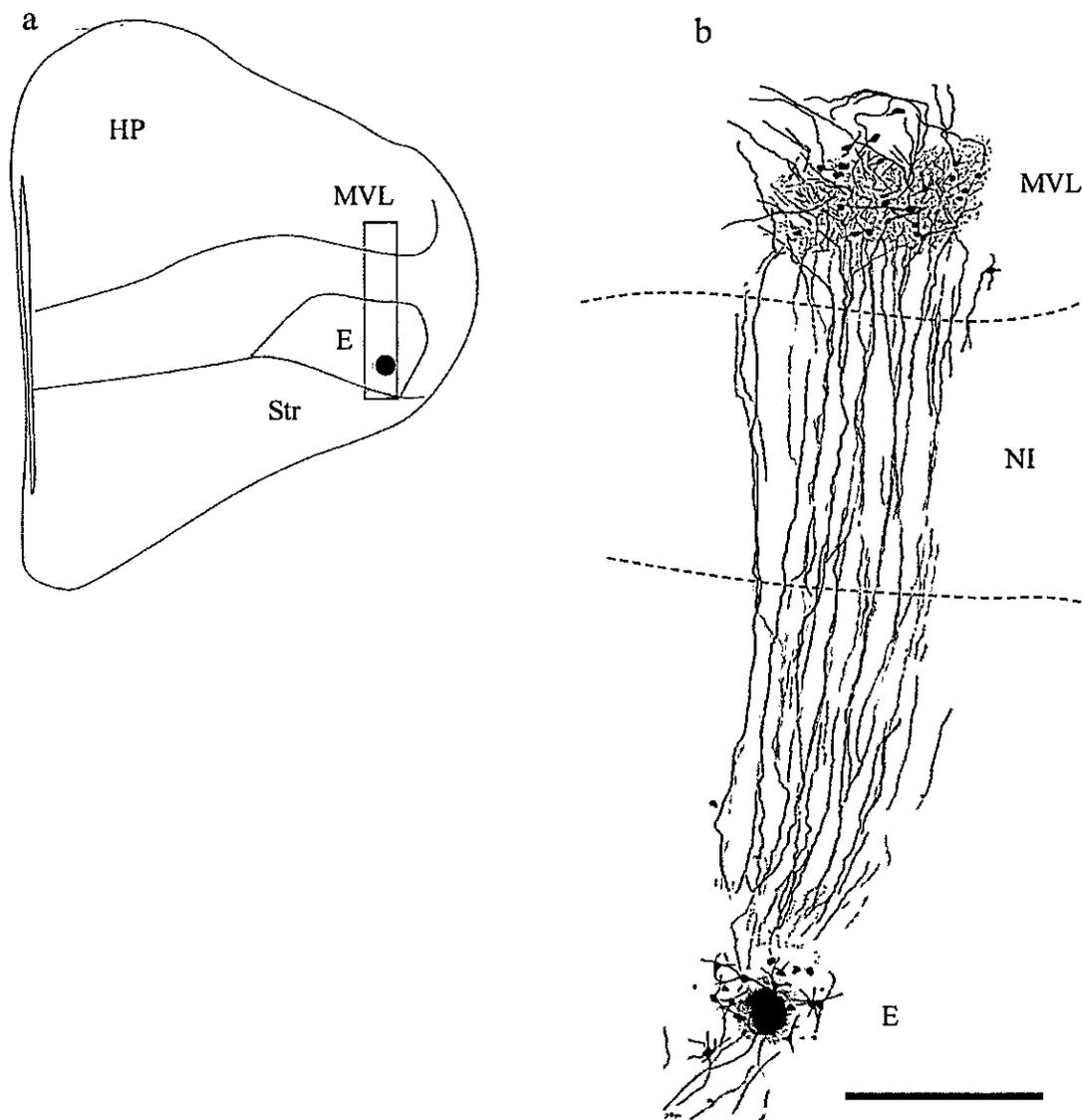


Figura 54 b

“Columna ” ento-mesopial: Reconstrucción en cámara lúcida de una inyección de biocitina en una rebanada coronal de cerebro de pollo. En (a) se indica la región en donde se localiza este sistema de proyecciones ento-mesopial. La región terminal mesopial se ubica ligeramente dorsal respecto de la lamina mesopial (sugerida en líneas punteadas). Se observan algunas neuronas mesopiales retrógradamente marcadas (b). Barra de calibración: 500 micrones