

UCH-FC
DOC - B.M.C.R.
F852
C.1

**LA VÍA TECTO FUGAL DE AVES Y MAMÍFEROS
UN ESTUDIO HODOLÓGICO COMPARADO.**

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

Felipe Andrés Fredes Tolorza

Enero, 2009

Director de Tesis Dr: Jorge Mpodozis

Co-Director de Tesis: Dr Harvey Karten



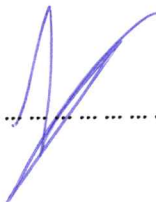
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE DOCTORADO

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

Felipe Andrés Fredes Tolorza

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 de Tesis rendido el día 13 de Octubre de 2008.

Director de Tesis:
Dr. Jorge Mpodozis

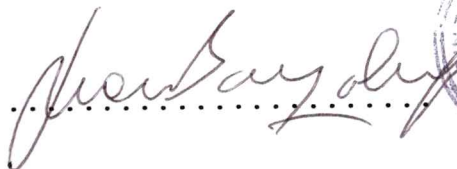

.....

Co-Director de Tesis
Dr. Harvey Karten

.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Juan Bacigalupo


.....

Dr. Adrián Palacios

.....

Dr. Francisco Aboitiz

.....

Dr. Pedro Maldonado


.....

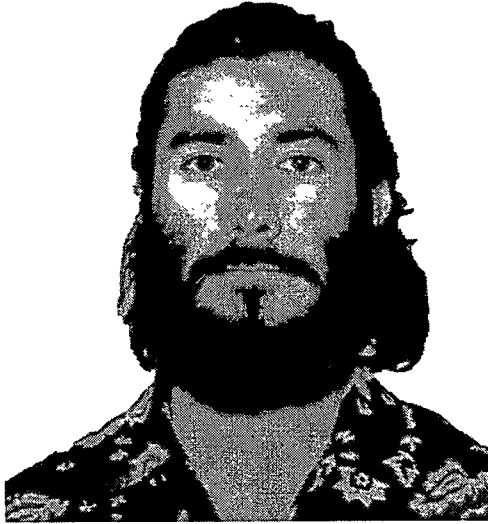


Dedicatoria

A todas las palomas y ardillas que maté. No como un homenaje sino como una declaración de responsabilidad.



Resumen Biográfico



Nací el 8 de noviembre de 1977, Santiago. Desde los 9 años viví en el valle del río Copiapó, asistiendo al Liceo Católico Atacama. En 1998 regresé a Santiago donde estudié licenciatura en Ciencias Biológicas en la Pontificia Universidad Católica de Chile, egresando el 2002. En el año 2000 ingresé al laboratorio de Jorge Mpodozis en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, donde aprendí a mirar a los seres vivos. Durante mi tesis doctoral realicé dos estancias de investigación en el laboratorio del Dr. Harvey Karten, San Diego, California, fue en esos viajes donde me convertí en neuroanatomista. Obtengo mi grado de Doctor a los 30 años de edad.

Agradecimientos

A mis padres, Hita y Jaime por guiarme y entregarme una niñez tranquila y enriquecedora de la que soy fruto. Jompoma, gracias por confiar en mí y por tu sinceridad en el interés científico, dos cosas que espero haber aprendido. Harvey, gracias por hacerme ver mi tozudez, y por hacer posible este estudio. Bettina, por esperarme y soportar mis cambios de ánimo, cosa que no es fácil, incluso para mí. Solano, siempre apoyando, muchas gracias.

Por ultimo, gracias a las llamas purificadoras del incendio que se llevaron muchas cosas con ellas, enseñándome a dejar las cosas ir; pero sobretodo, me mostraron la fuerza que había en mí, que difícilmente hubiera aflorado en otras circunstancias.





Índice de Materias

	página
1. Introducción	1
1.1 La anatomía comparada	1
1.2 El sistema visual de los vertebrados	1
1.3 La homología del rotundus y la homología de la neocorteza	3
1.4 La vía tectofugal de aves	5
1.4.1 Conexiones del núcleo rotundus con el telencéfalo	12
1.5 La vía tectofugal de mamíferos	16
1.5.1 Conexiones del pulvinar con la corteza	21
1.6 Problema general: el origen de la neocorteza	22
1.7 La vía tectofugal y sus implicancias en el problema del origen de la neocorteza	25
2 Hipótesis	27
2.1 Hipótesis general	27
2.2 Hipótesis específicas	27
3 Objetivos	28
3.1 Objetivo general	28
3.2 Objetivos específicos	28
4 Materiales y métodos	29
4.1 Selección del modelo animal	29
4.2 Experimentos con palomas	30
4.3 Experimentos con ardillas	33
5 Resultados	37
5.1 Anatomía de la vía tectofugal	37
5.1.1 Definición y subdivisiones del entopallio	37
5.1.2 Topografía zonal en la proyección rotundo entopallial	41
5.1.3 Topografía "punto a punto" en la proyección rotundo entopallial	45
5.1.4 Forma y arborización de los terminales rotundales en el entopallio	55
5.2 Vía tectofugal en mamíferos	57
5.2.1 Proyección tecto-pulvinar	57
5.2.2 Proyección del pulvinar caudal a la corteza temporal	71
5.2.3 Inyecciones corticales	79
5.2.4 Inyecciones en las áreas 19 y Tm	79
5.2.5 Inyecciones en Tp	80
5.2.6 Topografía en la proyección pulvino-cortical	93
5.2.7 Proyecciones córtico-estriatales y pulvino-estriatales	94
6 Discusión	98
6.1 Anatomía de la vía tectofugal	98
6.1.1 Definición y divisiones citoarquitectónicas del entopallio	98

6.1.2 Topografía en la proyección rotundo entopialial	100
6.1.3 Topografía punto a punto en la proyección rotundo entopialial	101
6.1.4 Divisiones anatómicas del entopialio: rostro-caudal versus dorso-ventral	105
6.1.5 Dlp y la proyección topográfica del tectum al tálamo dorsal	110
6.1.6 Propiedades funcionales de la vía tectofugal en aves	114
6.1.7 Vías paralelas en la proyección tectofugal	114
6.1.8 Conclusiones	117
6.2 Anatomía de la vía tectofugal de mamíferos	118
6.2.1 Morfología de las células que proyectan al pulvinar caudal	118
6.2.2 Las aferencias del CS al Pulc provienen exclusivamente de las células descritas por Mayor et al. (2000)	119
6.2.3 Aferencias segregadas del CS al pulvinar	122
6.2.4 Topografía de la proyección colo-pulvinar	124
6.2.5 Vías colofugales paralelas: conectividad del pulvinar con la corteza	125
6.2.6 Diferencias con otros estudios	127
6.2.7 Comparación con la vía colo-pulvinar en primates	128
6.3 Detección del movimiento en la vía colo-pulvinar de mamíferos	134
6.3.1 Propiedades de detección del movimiento en MT y su posible dependencia de la vía tectofugal	137
6.4 Origen evolutivo de la neocorteza	141
6.4.1 La homología en el sistema nervioso: definición y criterios	141
6.4.2 Historia filogenética de la neocorteza	145
6.4.3 Comparación entre las vías tectofugal en mamíferos y aves	151
6.4.4 La proyección tectorotundal: homología de los núcleos rotundus (aves y reptiles) y pulvinar caudal (mamíferos)	151
6.4.5 Proyecciones al telencéfalo provenientes del rotundus/pulvinar caudal	159
6.5 Conclusiones	163
6.5 Referencias	164



Lista de Abreviaturas

Ansa lenticularis	AL
Amígdala	AM
Bottlebrush dendritic endings	BDE
Complejo claustroromigdalóide	CA
Subdivisión centralis del núcleo rotundus	Ce
Cápsula interna	CI
Citocromo oxidasa	CO
Caudado putamen	CP
Subunidad B de la colerotoxina	CTb
Proteína de unión a calcio	CaBp
Colículo Superior	CS
Núcleo dorso lateralis posterior	Dlp
Decusación supraóptica	DS
Subdivisión dorsal anterior del núcleo rotundus	Da
Dorsal ventricular ridge	DVR
Entopalio	E
Perientopalio	Ep
Lateral Forebrain Bundle	FPL
Fundus del surco temporal superior	FST
Ácido γ -aminobutírico	GABA
Globus pallidus	GP
Núcleo geniculado ventral	GLv
Núcleo geniculado lateral dorsal	Gld
Habénula	Hab
Núcleo posterior del pulvinar inferior	IPp
Núcleo centro medial del pulvinar inferior	IPcm
Núcleo medial del pulvinar inferior	IPm
Complejo lateral posterior/pulvinar	LP/Pul
Núcleo lentiformis mesencefali	LM
División dorsal del núcleo geniculado medial	MGd
Área cortical medial temporal	MT
Creciente de MT	MTc
Área medial superior temporal	MST
Núcleo geniculado medial	MG
Núcleo del tracto óptico	NOT
Nidopalio	N
Núcleo ovoidalis	Ov

Núcleo óptico talámico principal	OPT
Subdivisión posterioris del núcleo rotundus	Post
Pulvinar rostral	Pulr
Pulvinar caudal	Pulc
Parvalbúmina	PV
Tracto quintofrontalis	QF
Núcleo rotundus	Rt
Stratum Zonale	SZ
Stratum Opticum	SO
Stratum Griseum Centrale	SGC
Stratum griseum intermedium	SGI
Subdivisión triangularis del núcleo rotundus	Tr
Célula ganglionar tectal	TGC
Área temporal posterior	Tp
Área dorso temporal	Td
Tracto óptico	TrO
Tracto septo mesencefálico	TSM
Tectum óptico	TeO

Lista de Figuras

- Figura 1. Esquema que muestra simplificada las vías tectofugal y tálamofugal en mamíferos y reptiles/aves. Página. 4
- Figura 2. Esquema que muestra los blancos paliales de las vías tálamofugal y tectofugal en aves, reptiles y mamíferos. Página. 4
- Figura 3. Sección transversal del tectum óptico de pollo, luego de una inyección de CTb en el Rt ipsilateral. Página. 8
- Figura 4. Aferencias retinales en la capa 5b. Página. 9
- Figura 5. Reconstrucción de una neurona del tipo I en el SGC en el tectum anterior de un pollo. Página. 9
- Figura 6. Divisiones anatómicas del núcleo rotundus. Página. 10
- Figura 7. Dibujo esquemático de la conectividad y morfología de una célula del SGC tipo I y los terminales de las células ganglionares de la retina. Página. 12
- Figura 8. Inyección de CTb en el núcleo rotundus y el transporte en rotundus contralateral y tectum. Página. 14
- Figura 9. Modelo de la proyección retino-tecto-rotundal. Página. 15
- Figura 10. Diagrama que resume los resultados obtenidos por Laverguetta & Shimizu, (2003). Página. 16
- Figura 11. Reconstrucción mediante cámara lúcida y fotografías de las células tipo I en el SGS3 de ardilla. Página. 21
- Figura 12. Serie de cortes transversales y sagitales a nivel del telencéfalo de la paloma identificando la región correspondiente al entopallio por opacidad diferencial. Página. 40
- Figura 13. Fibras anterógradamente marcadas en el E como resultado de una inyección triple de BDA que abarca la totalidad del núcleo Rt ipsilateral. Página. 42
- Figura 14. Topografía zonal de la proyección rotundo entopalial. Página. 44
- Figura 15. Distribución de células marcadas retrógradamente en el núcleo Rt, luego de una inyección de trazadores cristalinos en el entopallio. Página. 50
- Figura 16. Inyección doble en la parte medial del E y células retrógradamente marcadas en las subdivisiones centralis y triangularis del núcleo Rt. Página. 51
- Figura 17. Inyección doble en la región posterior del entopallio y células retrógradamente marcadas en el rotundus. Página. 52
- Figura 18. Inyección doble en la región medial del entopallio y células retrógradamente marcadas en las divisiones centralis y triangularis del núcleo rotundus. Página. 53
- Figura 19. Inyección doble en la región medial del entopallio y células marcadas retrógradamente en las

divisiones centralis y triangularis del rotundus. Página. 54

Figura 20. Representación gráfica de la posición de los cristales en el E y los grupos celulares retrógradamente marcados en el Rt que resume todos los casos de inyecciones cristalinas en el E. Página. 56

Figura 21. Reconstrucción de un axón en el E luego de una inyección localizada y pequeña en el núcleo rotundus. Página. 57

Figura 22. Inyección de CTb en capas superficiales del colículo superior y marcación anterógrada resultante en el núcleo geniculado dorsal y el pulvinar rostral. Página. 59

Figura 23. Marca anterógrada bilateral en el núcleo pulvinar caudal proveniente del colículo superior. Página. 60

Figura 24. Inyección de CTb en las capas profundas del colículo superior y marcaje anterógrado resultante en NOT. Página. 63

Figura 25. Marcaje anterógrado en los núcleos geniculado dorsal y pulvinar rostral como resultado de una inyección de CTb en el SC. Página. 64

Figura 26. Inyección de CTb en el núcleo pulvinar caudal y transporte resultante. Página. 64

Figura 27. Células retrógradamente marcadas en el colículo superior luego de una inyección en el núcleo pulvinar caudal. Página. 65

Figura 28. Inyección de CTb en núcleo pulvinar rostral. Página. 66

Figura 29. Localización laminar de las células marcadas en el colículo superior después de una inyección de CTb en el pulvinar caudal. Página. 67

Figura 30. Células retrógradamente marcadas en la subcapa 3 del SGS del colículo superior, resultantes de una inyección de CTb en el pulvinar caudal ipsilateral. Página. 69

Figura 31. Células retrógradamente marcadas en el colículo superior como resultado de una inyección de CTb en el pulvinar rostral ipsilateral. Página. 69

Figura 32. Terminales y cuerpos celulares en la corteza Tp luego de una inyección de CTb en el pulvinar caudal. Página. 74

Figura 33. Inyección de BDA en el núcleo pulvinar rostral. Página. 75

Figura 34. Terminales en TP luego de una inyección de BDA en el Pulc. Página. 76

Figura 35. Células y fibras en el área 19 luego de una inyección de CTb en el núcleo pulvinar rostral. Página. 77

Figura 36. Terminales anterógradamente marcados en el área 19 luego de una inyección de BDA en el núcleo pulvinar rostral ipsilateral. Página. 78

Figura 37. Inyección de CTb en el área 19 de la corteza extraestriada. Página. 80

Figura 38. Inyección de CTb en el área cortical Tp del lóbulo temporal. Página. 81

Figura 39. Patrón de marcaje retrogrado y anterógrado en el pulvinar caudal luego de la inyección de CTb en la corteza Tp ipsilateral de la figura anterior. Página. 82

- Figura 40. Patrón de marcaje retrogrado y anterógrado en el pulvinar caudal luego de la inyección de CTb en la corteza Tp ipsilateral. Página. 83
- Figura 41. Patrón de marcaje en el pulvinar rostral luego de una inyección de CTb en las áreas corticales 19/Tm. Página. 84
- Figura 42. Patrón de marcaje en el pulvinar rostral luego de una inyección de CTb en las áreas corticales 19/Tm. Página. 85
- Figura 43. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en la corteza temporal. Página. 86
- Figura 44. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en el área 19. Página. 87
- Figura 45. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en el área Tm/Tp. Página. 88
- Figura 46. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en el área 19. Página. 89
- Figura 47. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en el área Tp. Página. 90
- Figura 48. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en el área Tp. Página. 91
- Figura 49. Esquema que resume los resultados de la conectividad tecto-pulvino-cortical. Página. 92
- Figura 50. Terminales en el estriado luego de inyección de CTb en el núcleo pulvinar caudal. Página. 96
- Figura 51. Terminales y cuerpos celulares en el estriado y amígdala, luego de una inyección de CTb en la corteza temporal. Página. 97
- Figura 52. Esquema de los modelos propuestos para la organización de la proyección rotundo entopalial. Página. 109
- Figura 53. Distribución de los cuerpos celulares en el tectum luego de inyecciones iontoforéticas de HRP en Dlp. Página. 111
- Figura 54. Inyección en la zona telencefálica recipiente de Dlp caudal. Página. 113
- Figura 55. Células retrógradamente marcadas en Dlp. Página. 114
- Figura 56. Inyección de BDA en el núcleo rotundus de una lagartija y el transporte resultante en el tectum. Página. 153
- Figura 57. Esquema que muestra los aspectos principales de las hipótesis de homología del DVR en amniotas. Página. 157
- Figura 58. La embriología y la hipótesis claustramigdalar del DVR. Página. 158

Resumen

Uno de los problemas fundamentales en la neuroanatomía moderna, es el origen de la neocorteza de los mamíferos. Una de las investigaciones necesarias y fundamentales para dilucidar esta pregunta, es el estudio comparado de la organización de las vías visuales principales en aves y mamíferos .

Nosotros hemos estudiado el sistema tectofugal de palomas (*Columba livia*) y ardillas (*Spermophilus beecheyi*) en términos de conectividad, citoarquitectura y relaciones topográficas por medio de tinciones citoarquitectónicas clásicas y la inyección de trazadores retrógrados y anterógrados.

En aves, la vía tectofugal se caracteriza por la proyección interdigitada de las células de la capa 13 del tectum óptico sobre las diferentes subdivisiones del núcleo rotundus localizado en el tálamo; las células rotundales a su vez, envían sus axones a un núcleo llamado Entopallio ubicado dentro de una estructura no laminar llamada Dorsal Ventricular Ridge (DVR) en el telencéfalo palial. Esta estructura sólo está presente en reptiles y aves.

En mamíferos, las células localizadas en las capas superficiales del colículo superior (homólogo del tectum óptico en las aves) proyectan a varias de las subdivisiones del complejo pulvinar ubicado en el tálamo. En su lugar, las células del complejo pulvinar envían sus axones sobre la corteza extraestriada en el lóbulo temporal.

Dadas las similitudes en conectividad entre los estadios retino-tecto-talámicos de la vía visual (y también auditiva) en mamíferos y aves, el DVR ha sido considerado estructuralmente homólogo a la corteza extraestriada visual y auditiva en mamíferos. Sin

embargo, la homología o equivalencia estructural de la vía tectofugal, en especial la del núcleo rotundus y alguna de las divisiones del complejo pulvinar de mamíferos no ha sido establecida. Con el objetivo de aclarar esta homología hemos querido determinar si es posible profundizar a nivel celular y organizacional, estas similitudes gruesas mencionadas anteriormente.

Nosotros hemos demostrado en este estudio las siguientes similitudes estructurales entre las vías estudiadas:

1. Las células del colículo superior en ardillas que originan la proyección al Pulvinar caudal se ubican en la capa SGS3. Estas células fueron llenadas intracelularmente por Luskch et al. 2003, demostrando una morfología muy particular que es muy similar a las células de la capa 13 del tectum de la paloma proyectante al núcleo rotundus. En aves esta proyección es bilateral, con un énfasis mayor en el tectum ipsilateral. Esto mismo fue demostrado por nosotros en la ardilla. La proyección ipsi y contralaterales se originan de las mismas células mediante una colateral, resultado que ha sido demostrado para la vía tectofugal en palomas, y que resulta sugerido en nuestro estudio.

2. Inyecciones pequeñas de trazadores en el pulvinar caudal generan un marcaje retrógrado de los cuerpos celulares mencionados en el punto anterior, en toda la superficie tectal en ambos hemisferios; además inyecciones pequeñas de trazador en las capas superficiales del colículo superior generan un plexo de fibras poco denso pero que abarca toda la superficie del núcleo bilateralmente. Estos resultados en conjunto sugieren fuertemente que la topografía colo-pulvinar se organiza de una forma interdigitada, como

fue demostrado para la paloma (Marín et al. 2003).

3. Nuestros estudios de doble marcaje demuestran que la proyección rotundo entopialial en palomas se organiza de forma topográfica punto a punto; nuestros experimentos de inyecciones pequeñas de trazadores en TP sugieren que esta topografía se conserva también en la proyección del pulvinar caudal a la corteza TP en la ardilla.

4. Una diferencia evidente en las dos vías es la ausencia de una proyección del entopallio al núcleo rotundus, como la que se observa en la proyección de la corteza TP al núcleo pulvinar caudal.

Estos resultados sugieren fuertemente una homología estructural entre la vía tectofugal en palomas y la vía colo-pulvinar en mamíferos, al menos hasta el nivel del núcleo rotundus, hecho que mantiene al DVR visual como posible homólogo de la corteza extraestriada TP.

Se ha mostrado que la vía tectofugal en aves está involucrada activamente en la detección del movimiento; su homología estructural con la vía colo-pulvinar da pie para sugerir un rol funcional similar en mamíferos, en especial con las respuestas al movimiento del área MT en la corteza extraestriada. Nosotros proponemos que las propiedades de detección de movimiento encontradas en el llamado “dorsal stream” en la percepción visual de primates se basa, al menos parcialmente, en la proyección indirecta de la vía colo-pulvinar a MT y no exclusivamente en la vía retino-geniculo-V1.

Abstract

The origin of the mammalian neocortex is one of the most relevant problems in modern neuroanatomy. A fundamental and necessary research venue to elucidate this question consists in the comparative study of the anatomical organization of the main fugal visual in birds and mammals.

We have studied the tectofugal system of pigeons (*Columba livia*) and the Californian ground squirrel (*Spermophilus beecheyi*) in terms of connectivity, citoarchitecture and topographic relations by means of classic citoarchitecture stains and reural tracers injections. In birds, the tectofugal pathway is featured by the interdigitate topographic projection of the layer 13 tectal cells to the several rotundal subdivisions, located at the dorsal thalamus; rotundal cells, in turn, send its axons to a telencephalic structure called entopallium, which is circumscribed within a pallial telencephalic domain called the Dorsal Ventricular Ridge (DVR). This structure is present only in reptiles and birds. On the other hand in mammals, cells located at the superficial layers of the superior colliculus (homologous to optic tectum in birds), project to several pulvinar complex divisions, located at the dorsal thalamus. Mammals however, do not show any pallial structure with nuclear organization ventral to the neocortex, receiving afferents from the sensory thalamus like the DVR in reptiles. The pulvinar complex cells instead, send their axons to the extraestriate cortex in the temporal lobe.

Given the hodological similarities between the retino-tecto-thalamic stages in these pathways in birds and mammals, the visual and auditory moiety of birds and reptile's

DVR has been considered homologous to the auditory and extra-striate visual cortices, despite the cytoarchitectonic differences between both structures. However the homology or structural equivalence of the tectofugal pathway, specially the nucleus rotundus and one of the subdivisions of the pulvinar complex in mammals is far from consensus in the neuroanatomist's community. With the aim to clarify further this structural homology we studied at cellular and organizational level the similarities just mentioned.

We have demonstrated the following structural similarities in the studied pathways:

1. The cells projecting to the caudal pulvinar in squirrels are located in the SGS3 layer of the superior colliculus. These cells were intracellularly filled by Luskch et al. 2003 showing a striking morphology very similar to the tectal layer 13 cells projecting to the nucleus rotundus in the pigeon. This projection is bilateral, showing more emphasis in the ipsilateral tectum. We demonstrated this features in the squirrel.

2. Small tracer injections in the caudal pulvinar generate a retrograde labeling of the cells mentioned in the last point, they are distributed in the whole tectal surface in both hemispheres; besides small tracer injections in the superficial layers of the superior colliculus generate a fiber plexus all over the extension of the caudal pulvinar despite the location of the injection site. These results strongly suggest the colic-pulvinar topography is organized in an interdigitate arrangement in the same way as in the pigeon's tectorotundal pathway (Marin et al., 2003).

3. Our double labeling studies demonstrate the organization of the rotundo entopallial projection is a "point to point" topography; the experiments of tracer injections in TP

suggest this topography is conserved in the caudal pulvinar-TP projection.

4. The most striking difference between these two pathways is the absence of the back projection to the rotundus from the entopallium, in comparison to the projection from TP to the pulvinar seen in the squirrel.

These results strongly suggest the structural homology between the tectofugal pathway in pigeons and the colopulvinar pathway in mammals, at least at the level of nucleus rotundus, thereafter the DVR could be considered as a homologous structure of the extrastriate cortex TP.

It has been shown that the tectofugal pathway is actively involved in motion detection; its structural homology with the colo-pulvinar pathway supports a similar functional role in mammals, specially the activity of MT area in primates. We propose the movement detection properties in the dorsal stream of the primates visual perception is partially based in the indirect projection of the colo-pulvinar pathway to MT and not exclusively to V1.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La anatomía comparada

El estudio comparado del sistema nervioso es de fundamental importancia para establecer el origen evolutivo de las estructuras que lo componen; con esto se hace posible la reconstrucción de la historia de cambios estructurales a lo largo de la filogenia, y diferenciar novedades de convergencias o paralelismos. Además, la comparación de los diferentes modos de vida de los animales, evidencia la enorme plasticidad de ciertas estructuras y la perseverante conservación de otras.

Dado que la fisiología del sistema nervioso está basada fundamentalmente en la estructura y conectividad del cerebro, los estudios comparados permiten extrapolar funciones conocidas de estructuras, vías o sistemas homólogos de una especie o grupo animal a otros donde su fisiología aun no ha sido investigada.

1.2 El sistema visual de los vertebrados

Los axones de las células ganglionares de la retina inervan seis blancos específicos en el cerebro de los vertebrados amniotas: el tectum óptico, el pretectum, el hipotálamo, el tálamo dorsal, el tálamo ventral, y el sistema óptico accesorio (Nieuwenhuys et al., 1998). El peso o énfasis relativo de cada una de estas proyecciones es variable dependiendo de la especie animal, y por su puesto, de su modo de vida. Estas estructuras retino recipientes a su vez generan eferencias a otros grupos neurales específicos, lo que da lugar a un conjunto de

vías visuales paralelas segregadas, organizadas en mayor o menor grado independientemente unas de otras. De todas estas vías nosotros nos concentraremos en aquellas que son fugales al telencéfalo, a saber, la vía talamofugal y la vía tectofugal (figura 1).

La vía talamofugal comienza con la proyección de las células retinales ganglionares sobre un núcleo del tálamo dorsal (figura 1). En los amniotas no mamíferos las células fugales de este núcleo talámico proyectan a la región dorsal del telencéfalo palial, específicamente a una corteza dorsal de organización trilaminar (figura 2). En los mamíferos esta proyección termina en la corteza estriada (parte de la neocorteza), y presenta una organización hexalaminar (figura 2) (Butler & Hodos, 2005).

La vía tectofugal se origina a partir de la proyección de las ganglionares retinales al tectum óptico, o colículo superior como es llamado en mamíferos. Esta estructura se ubica en el techo del mesencéfalo y presenta en todos los amniotas una organización multilaminar. El tamaño y desarrollo de la laminación es variable entre las especies. En reptiles y aves, la proyección fugal al telencéfalo se origina desde una subpoblación específica de células ubicadas en las capas más profundas del tectum. Estas células envían sus axones bilateralmente a un núcleo específico del tálamo dorsal, llamado el núcleo rotundus, único núcleo tecto-recipiente bilateral en el tálamo que proyecta al telencéfalo palial (Mpodosis et al., 1996. figura 1). La región palial que recibe

los axones provenientes del rotundus corresponde a la parte anterior del Dorsal Ventricular Ridge (DVR), una estructura de organización citoarquitectónica nuclear, ubicada ventral a la corteza (figura 2) (Butler & Hodos, 2005). En mamíferos en cambio, la constitución anatómica de la vía tecto-fugal es menos clara. La existencia de un núcleo homólogo al rotundus es en general aceptada en la literatura, pero la identidad de este núcleo está lejos de estar establecida (Aboitiz & Montiel, 2007). Esto es así debido a que existen varios núcleos tecto-recipientes en el tálamo dorsal que proyectan a blancos paliales, y que por tanto podrían considerarse homólogos al rotundus. Los núcleos propuestos se diferencian por recibir proyecciones de distintos tipos celulares tectales, y por proyectar diferencialmente a distintas estructuras paliales. De entre estos núcleos propuestos destacan una división del complejo pulvinar (núcleo pulvinar caudal) que proyecta sobre la corteza temporal, y una división del complejo intralaminar (núcleo suprageniculado) que proyecta subcorticalmente, sobre la región palial de la amígdala (Aboitiz & Montiel, 2007).

1.3 Homología del rotundus y homología de la neocorteza.

En 1925 Nils Holmgren, propuso que el DVR es homólogo al complejo claustró-amígdaloide en mamíferos, basándose exclusivamente en la observación de que el DVR deriva embriológicamente del mismo primordio neural que el complejo claustró-amígdaloide, esta interpretación es conocida como la hipótesis

claustró-amigdalóide del DVR. Con la intención de entregarle un sustento homológico a esta hipótesis, se ha postulado que un núcleo del complejo intralaminar, proyectante a la amígdala sería homólogo al rotundus de aves y reptiles. Por otro lado, Harvey Karten en 1966, propuso la homología entre el DVR y la corteza temporal, basándose principalmente en que las aferencias al DVR en aves y reptiles y la corteza temporal en mamíferos reciben aferencias del mismo núcleo talámico, es decir, el rotundus y parte del complejo pulvinar de mamíferos. Esta interpretación es conocida como la hipótesis neocortical del DVR.

En este contexto, establecer la identidad del “rotundus mamíferiano” es de gran relevancia, dado que resulta crucial para subsecuntemente establecer la identidad de la región palial mamíferiana que recibe las aferencias tecto-fugales, es decir, la región homóloga al DVR de aves y reptiles.

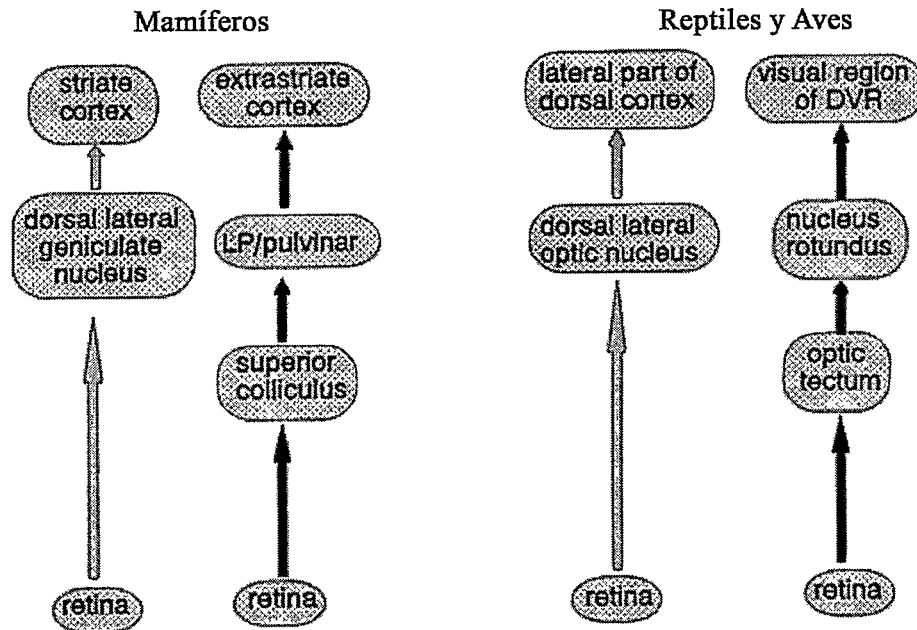


Figura 1. Esquema que muestra simplificada las vías tectofugal y tálamo-fugal en mamíferos y reptiles/aves. Modificado de Butler & Hodos, 2005.

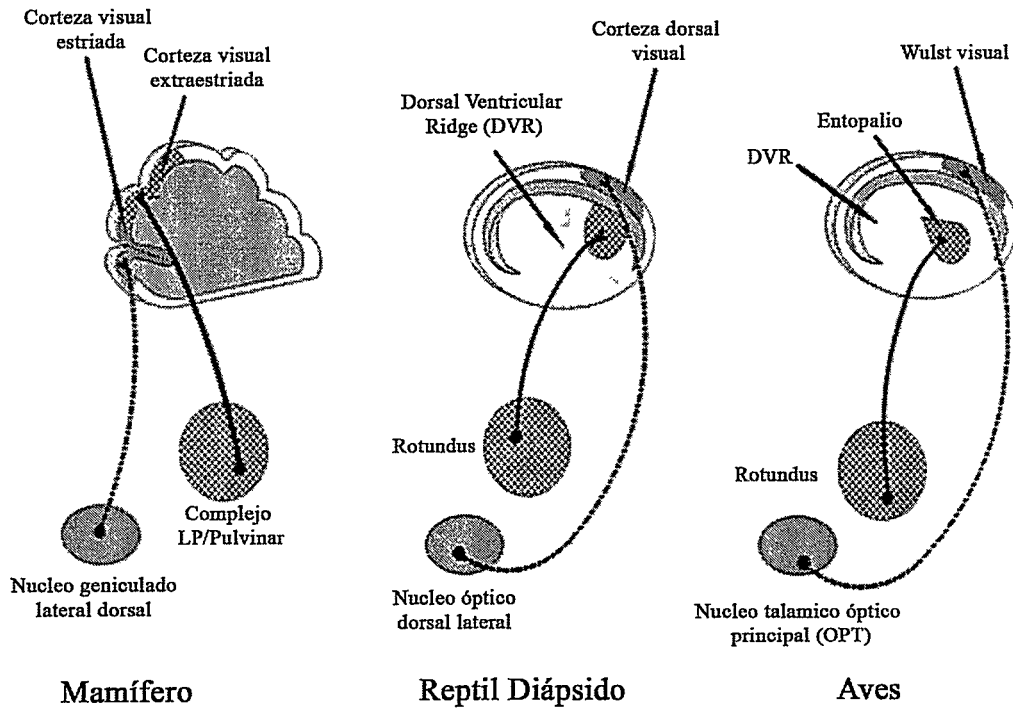


Figura 2. Esquema que muestra los blancos paliales de las vías tálamo-fugal y tectofugal en aves, reptiles y mamíferos. Modificado de Butler & Hodos, 2005.

1.4 La vía tectofugal en aves

El sistema retino-tectofugal es la principal vía que media la percepción visual en vertebrados no mamíferos. En aves esta vía es muy desarrollada, colectando aproximadamente un 90% de los axones retinales proyectan en forma retinotópica precisa al tectum contralateral (Mpodozis et al., 1995; Karten et al., 1997). En el tectum los terminales axónicos de la retina de diferentes morfologías segregan en seis capas específicas dentro de la capa retinorecipiente superficial (Ramón y Cajal, 1911; Hunt & Webster, 1975; Angaut & Reperant, 1976).

La proyección tectofugal se origina exclusivamente de las células localizadas en la capa 13 o stratum griseum centrale (SGC) las que proyectan bilateralmente al núcleo rotundus (Rt) ubicado en el tálamo dorsal (figura 9) (Benowitz & Karten, 1976; Engelage & Bischof, 1993; Mpodozis et al., 1996). Fibras colaterales de las células de la capa 13 en ruta al Rt dejan terminales también en varios núcleos pretectales –los núcleos intrínsecos del tracto tectotalámico- los cuales a su vez envían proyecciones que descargan ácido γ -aminobutírico (GABA) en el Rt (Ngo et al., 1994; Mpodozis et al., 1996).

El Rt es el núcleo más grande en el tálamo en la mayoría de las aves. Este posee varias subdivisiones anatómicas (figura 6), de acuerdo a diferencias regionales en propiedades citoarquitectónicas, histoquímicas, y hodológicas (Benowitz & Karten, 1976; Nixdorf and Bischof, 1982; Martinez-de-la-Torre et al., 1990; Mpodozis et al., 1996; Marin et al., 2003; Redies et al., 2000; Hellmann & Gunturkun, 2001). Estas subdivisiones

anatómicas pueden tener una significancia funcional, desde que estudios fisiológicos muestran que las neuronas en distintas regiones del Rt responden específicamente a diferentes dimensiones visuales, tales como color, luminancia, movimiento y profundidad (Revzin, 1979; Wang et al., 1993). También, las lesiones en el Rt producen serios déficit en una variedad de tareas visuales que involucran intensidad color, reconocimiento de patrones y agudeza visual (Hodos & Karten, 1966; Shimizu & Karten, 1993; Laverghetta & Shimizu, 1999).

Una variedad de estudios han demostrado que la única fuente de proyecciones del tectum óptico al núcleo rotundus en aves, proviene de una sola capa, el Stratum Griseum Centrale (SGC) (Benowitz & Karten, 1976; Hunt & Kunzle, 1976; Mpodozis et al., 1996; Karten et al., 1997). Las células de la capa SGC o 13 luego de la nomenclatura introducida por primera vez por Ramón y Cajal (1911) serán llamadas “tectal ganglion cells” (TGCs).

Karten et al. (1997) definieron dos distintas subpoblaciones de neuronas tectales con conexiones únicas a divisiones específicas del núcleo rotundus, las TGCs tipo I y tipo II. La existencia de estas poblaciones pueden ser distinguidas claramente en el pollo. Se ha demostrado por medio de técnicas de llenado intracelular (Luksch et al., 1998) una morfología específica para estos tipos neuronales. Las TGCs tipo I tienen el soma situado en la sublamina exterior del SGC y terminaciones dendríticas especializadas que fueron siempre encontradas en la subcapa 5b. Estos “bottlebrush dendritic endings” (BDE) son la base citológica para la banda de material marcado con CTb en la

capa 5b luego de inyecciones de CTb en el núcleo Rt (figura 3). Las neuronas SGC tipo I se marcan retrógradamente luego de inyecciones de CTb en las divisiones dorsal anterior y centralis del Rt. Los campos dendríticos de estas células son circulares y muy grandes, abarcando una superficie de diámetros de hasta 4mm (promedio 1700 μm) indicando una enorme superposición de los campos receptivos de células individuales (figura 5). Karten et al. (1997) concluyeron que las aferencias retinales directas a las TGCs tipo I se originan de un tipo especial de células ganglionares con un soma pequeño (4.5-6 μm) y árbol dendrítico muy pequeño también (25-40 μm) (figura 4). El árbol axónico de estas ganglionares se ubica en la capa 5b, es radial con respecto a la superficie tectal y cada uno forma ramas laterales con delgados árboles laterales que terminan en botones. El diámetro de estos complejos axónicos es de 10 μm , colocalizando precisamente con los BDEs de las neuronas de tipo I. (figura 7)

Las TGCs tipo II en cambio tienen sus somas situados en la capa interna de la SGC y sus dendritas nunca llegan más superficialmente que la capa 8. Las neuronas del SGC tipo II se marcan retrógradamente luego de inyecciones de CTb en las divisiones posterior y triangularis del Rt. Aunque las dendritas de estas neuronas tienen la tendencia de terminar en las capas 8 y 9, sus BDEs no muestran una distribución restringida como los que muestran las neuronas del tipo I; sus campos dendríticos son similares a los de las neuronas tipo I pero de forma elipsoidal. Basado en la posición de los BDEs, las células tipo II no reciben aferencias monosinápticas desde la retina.

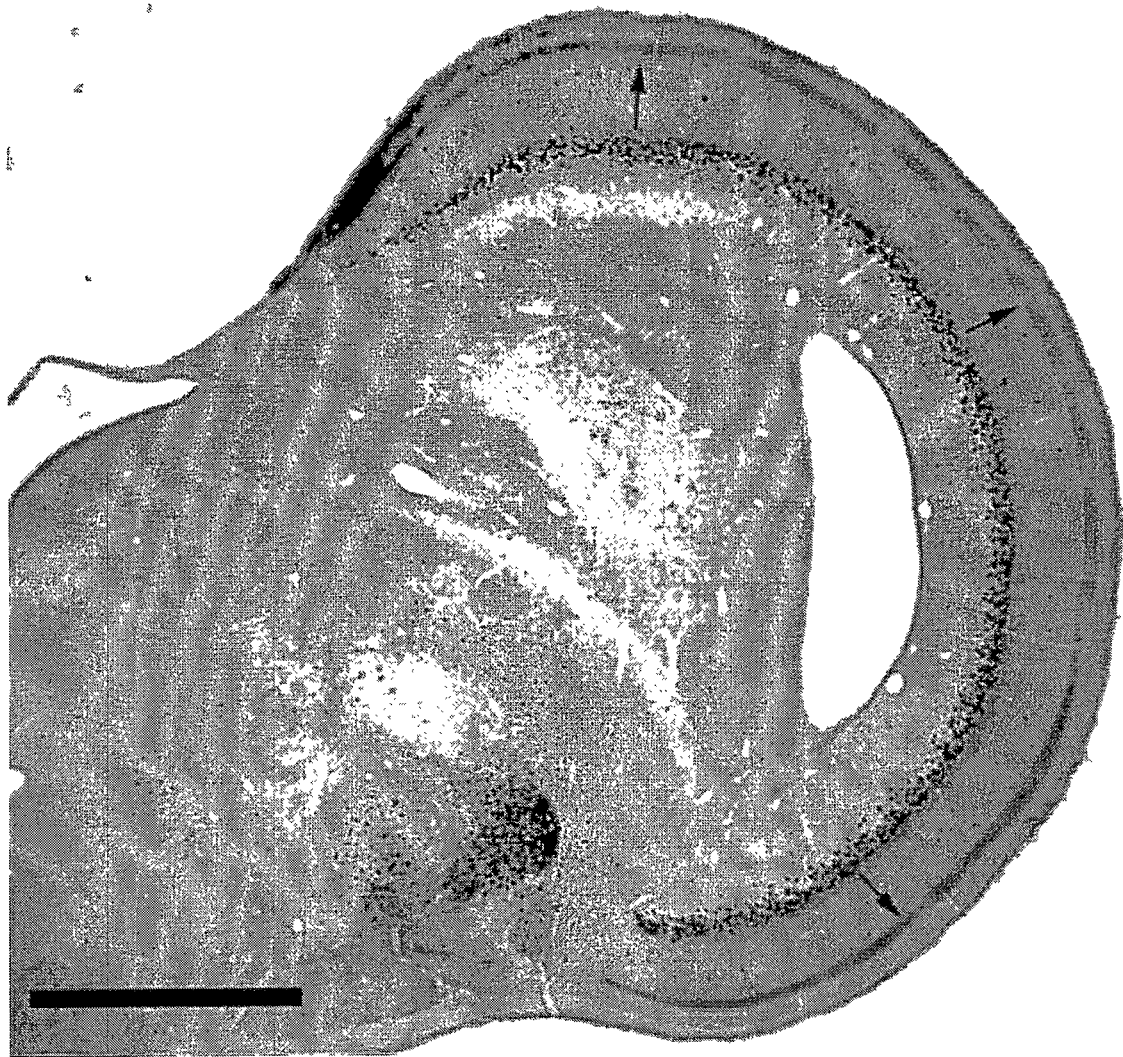


Figura 3. Sección transversal del tectum óptico de pollo, luego de una inyección de CTb en el Rt ipsilateral. Se aprecia una marca muy densa de cuerpos celulares en la capa 13. Las flechas indican la banda de marcaje en la capa 5b que presumiblemente corresponde con los BDEs de las células en la capa 13. Barra de calibración= 2mm. Tomado de Luksch et al. (1998).

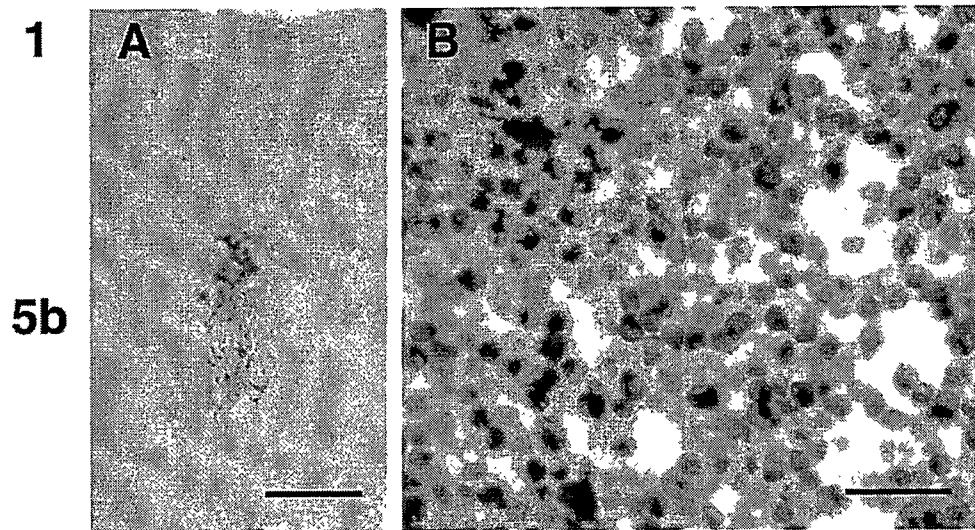


Figura 4. Aferencias retinales en la capa 5b. A: terminal axónico representativo que fue marcado luego de una inyección de BDA en el tracto óptico. La imagen fue tomada de una sección transversal. Se aprecia que los terminales arborizan únicamente dentro de la capa 5b. B: células ganglionares de la retina marcadas luego de una inyección de CTb en el tectum contralateral. Imagen tomada de una sección de retina en el plano horizontal. La mayoría de las ganglionares consisten en somas muy pequeños de 4.5-6 μm . Barra de calibración en A=50 μm en B=20 μm . Tomado de Luksch et al. (1998).

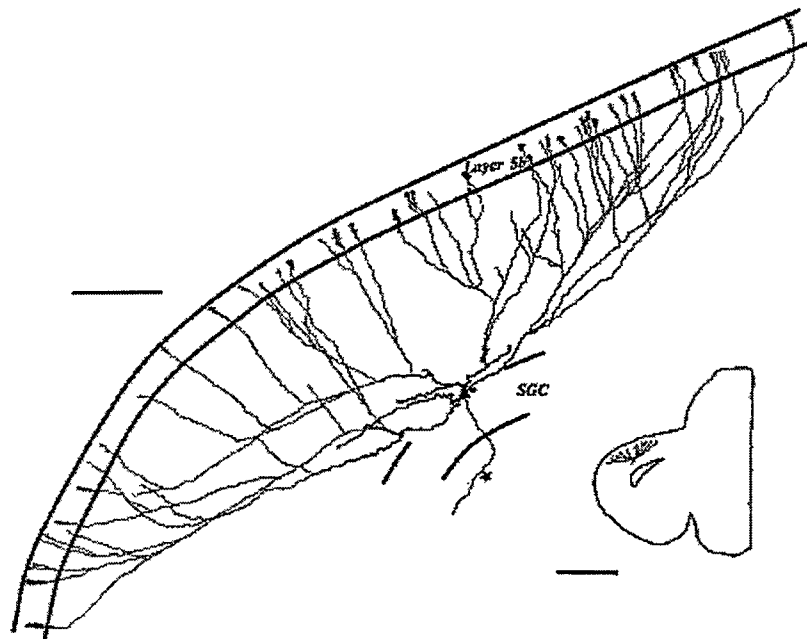


Figura 5. Reconstrucción de una neurona del tipo I en el SGC en el tectum anterior de un pollo. Luego de llenarla intracelularmente en una rebanada viva horizontal. En la reconstrucción se delinea la capa 5b y 13 para orientación. Los terminales dendríticos están restringidos a la capa 5b y espaciados de manera constante. La estrella indica el axón. Grosor de la rebanada: 500 μm . Barras de calibración. 200 μm en dibujo principal, 2 mm en el recuadro. Tomado de Luksch et al. (1998).

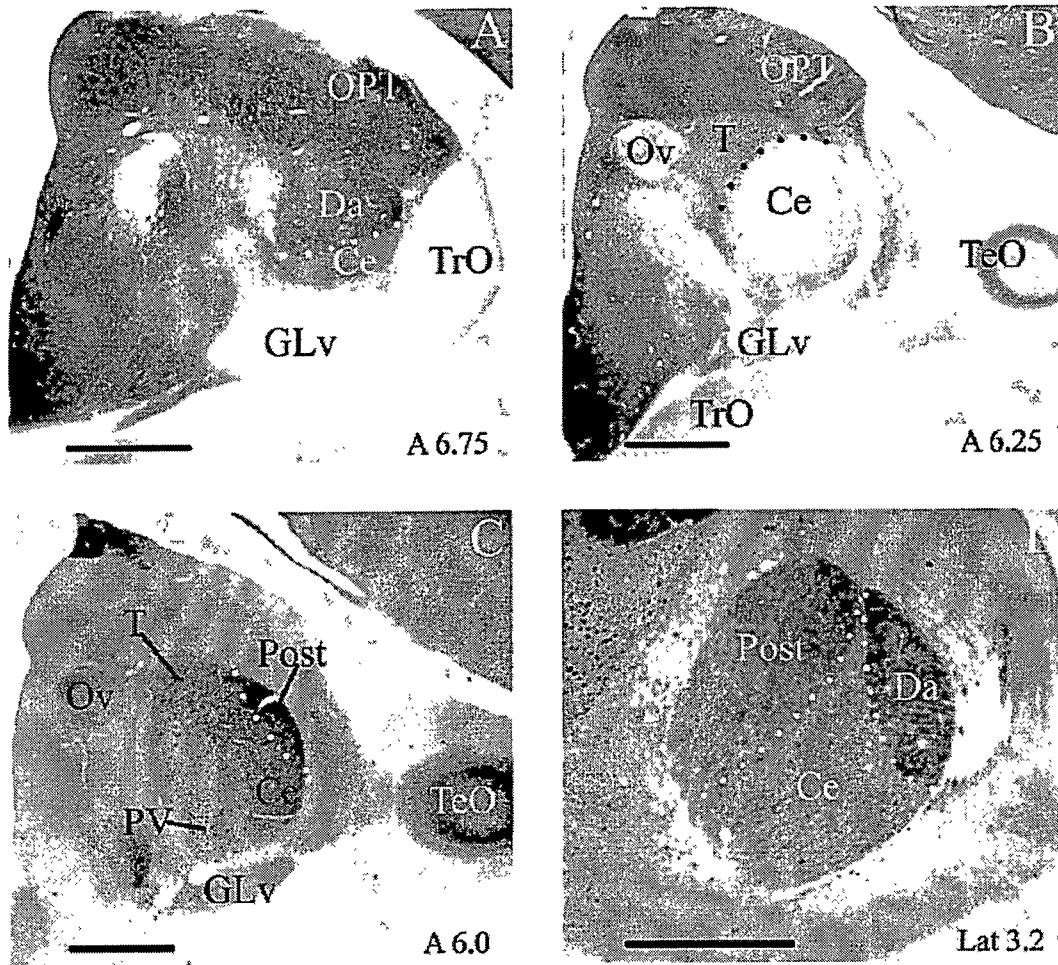


Figura 6. Divisiones anatómicas del núcleo rotundus. A, B: imágenes digitales transversales a través del tálamo de una paloma, inmunoreaccionada para proteína de unión a calcio (CaBp). La subdivisión dorsal anterior (Da) está demarcada por un plexo denso de procesos axonales positivos para CaBp (A). La subdivisión triangularis (T) está demarcada por somas positivos para CaBp (B). La subdivisión centralis (Ce) no presenta una reacción significativa para CaBp. C: Sección coronal del tálamo inmunoreaccionada para parvalbúmina (PV). La división posterioris (Post) está demarcada por un plexo denso de terminales positivos para PV. D: Sección sagital del tálamo reaccionada para CTb, luego de una inyección en el tectum ipsilateral. Los límites de las divisiones anterior, central y posterior están claramente demarcadas por la densidad diferencial de los plexos formados por la fibras tectales entrantes. Barras de calibración = 1 mm. Tomado de Marín et al. (2003).

La propiedad más relevante de la proyección tectorotundal es la pérdida completa de topografía “punto a punto” de la proyección retinotectal. De hecho, dadas las arborizaciones de gran tamaño de la TGCs, el mapa espacial preciso de la superficie tectal se engruesa al nivel de las TGCs (Schmidt & Bischof, 2001). Sin embargo un

rearrreglo más radical está presente en la proyección de las TGCs sobre el Rt. Varios estudios han mostrado que inyecciones de trazadores confinadas al Rt marcan un gran número de TGCs distribuidas a lo largo de toda la superficie del tectum, incluyendo a todos los miembros de una clase particular (figura 8). No se ha reportado ninguna variación de la distribución de las células a través de la superficie del tectum de acuerdo a la posición de la inyección en el Rt. Inyecciones de trazadores anterógrado restringido a una porción del tectum marca una cantidad de axones dispersos sobre todo el núcleo (Benowitz & Karten, 1976; Nixdorf & Bischof, 1982; Ngo et al., 1994; Karten et al., 1997; Deng & Rogers, 1998; Hellman & Gunturkun, 1999). Se ha propuesto una topografía interdigitada para la proyección de las TGCs sobre el Rt. Este modelo, que se basa en inyecciones de trazadores retrógrados cristalinos en una subdivisión específica del Rt, propone que poblaciones intercaladas de TGCs que cubren toda la extensión de la superficie tectal proyectan sobre zonas separadas pero adyacentes dentro de una sola subdivisión (figura 9) (Marín et al., 2003).

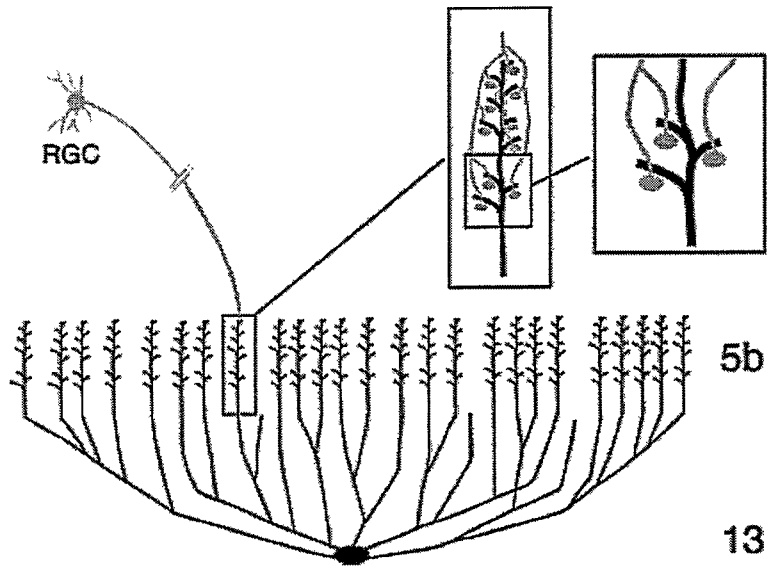


Figura 7. Dibujo esquemático de la conectividad y morfología de una célula del SGC tipo I y los terminales de las células ganglionares de la retina. Los recuadros muestran el detalle de un patrón de conexión hipotético. Las dendritas de la células del SGC están en negro y la ramificación axónica de la retina en gris. Tomado de Luksch et al. (1998).

1.4.1 Conexiones del núcleo rotundus con el telencéfalo

El Rt provee de una proyección masiva, vía el “lateral forebrain bundle” (FPL) a un área del telencéfalo palial llamado el Dorsal Ventricular Ridge (DVR), dentro del DVR las fibras terminan específicamente en la región conocida como el “core” del entopallio (E) (previamente llamado ectoestriado: Reiner et al., 2004) (Karten & Hodos, 1970; Benowitz & Karten, 1976; Nixdorf & Bischof, 1982; Watanabe et al., 1985; Egedi & Tombol, 1993; Engelage & Bischof, 1993; Laverghetta & Shimizu, 2003). Se ha mostrado la existencia de una topografía zonal en esta proyección, en la cual distintas regiones separadas en el eje anteroposterior del E, son aferentadas por los axones de una subdivisión específica del núcleo Rt (Nixdorf & Bischof, 1982; Laverghetta & Shimizu, 2003, Krutzfeldt & Wild, 2004) (figura 10). El Ec proyecta a su vez al cinturón o banda

perientopallial (Ep, previamente conocido como banda periectoestriatal; Karten & Hodos, 1970), una cubierta que rodea al E en las regiones dorsal y lateral y que posee un grosor variable; este a su vez envía sus aferencias a varias partes del nidopalio y el arcopalio (conocidos previamente como neoestriatum y archiestriatum respectivamente; Karten & Hodos, 1970; Watanabe et al, 1985; Tömböl et al., 1988; Husband & Shimizu, 1999). Estudios recientes muestran que algunas proyecciones al nidopalio y mesopalio y estriado lateral son originadas directamente del Ec (Krutzfeldt & Wild, 2004; Husband & Shimizu, 1999). Estudios electrofisiológicos han mostrado que la mayoría de las neuronas en el E responden a estímulos en movimiento (Revzin, 1970; Kimberly et al., 1971; Engelage & Bischof, 1997; Gu et al., 2002) pero un estudio psicofísico reciente ha mostrado que sólo la parte caudal del Ec es sensible al movimiento y la parte rostral tiene relación con la percepción de la forma (Nyugen et al. 2004).

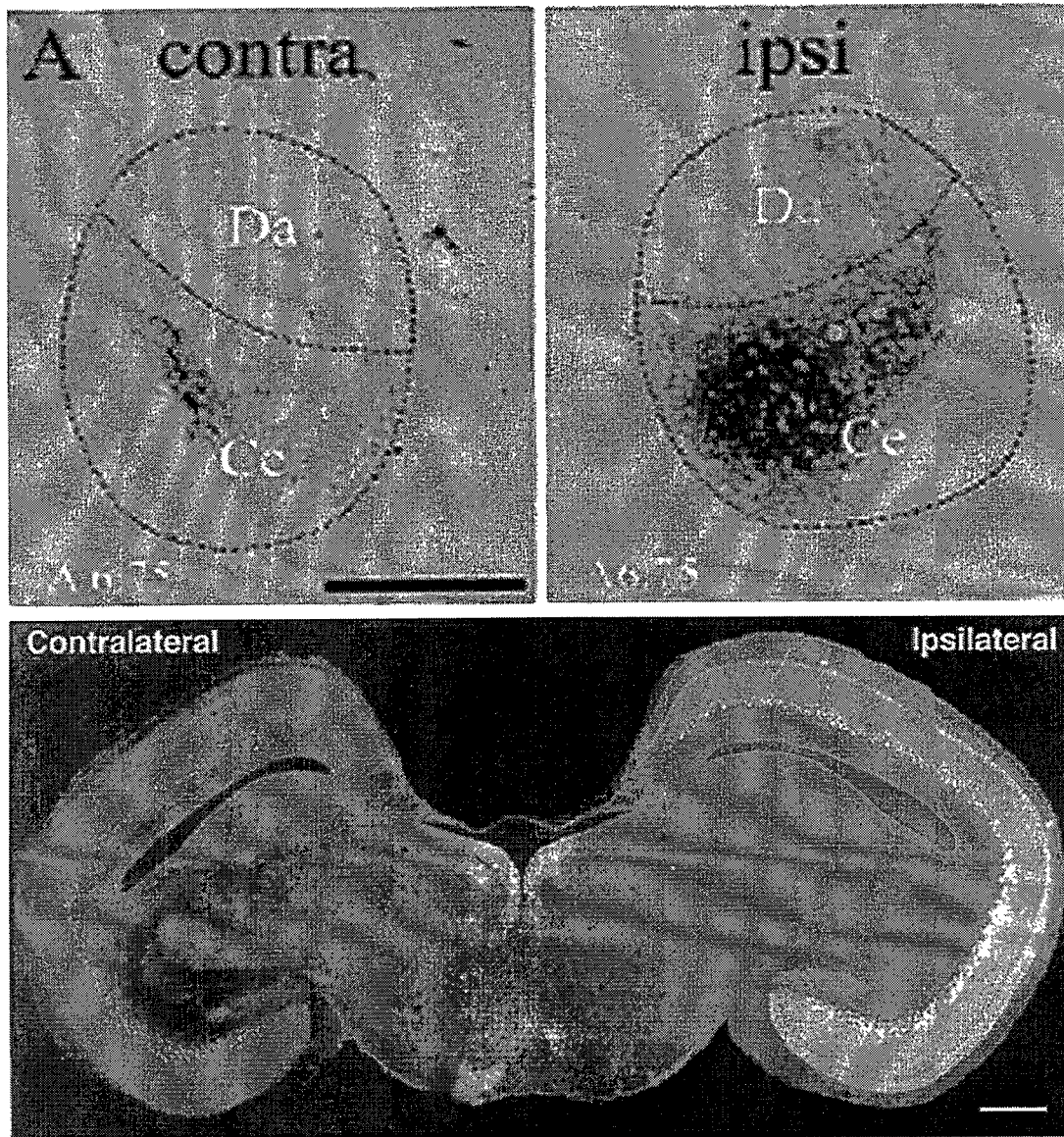


Figura 8. Inyección de CTb en el núcleo rotundus y el transporte en rotundus contralateral y tectum. En el recuadro de la derecha se muestra una inyección en la subdivisión centralis del núcleo rotundus. A la izquierda se muestra como el trazador se transportó retrógrado-anterógradamente. Note que forma una imagen especular del sitio de inyección. Abajo se muestra el tectum óptico con células de la capa 13 marcadas retrógradamente. Note que los cuerpos se ubican en toda la superficie tectal y la densidad celular es más alta en el tectum ipsilateral. Barras de calibración corresponden a 1mm. Tomado de Mpodosis et al. (1996).

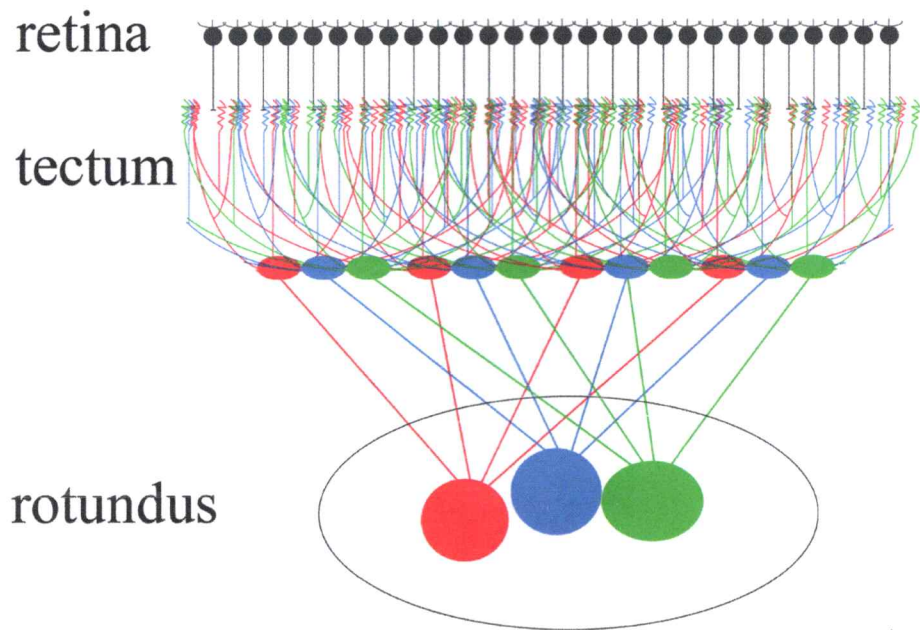


Figura 9. Modelo de la proyección retino-tecto-rotundal. El modelo de Marín et al. 2003, propone que loci distintos pero yuxtapuestos dentro de una subdivisión (rojo, azul y verde en rotundus) reciben de poblaciones de TGCs cuyos cuerpos se distribuyen en toda la superficie tectal pero que se interdigitan (rojo, azul y verde en tectum), de modo que cada locus en el rotundus está representado todo el campo visual. La retina proyecta al tectum en forma estrictamente topográfica y las dendritas de algunos tipos de TGCs hacen sinapsis directas con ellas. Note que las TGCs poseen árboles dendríticos grandes que abarcan una gran superficie tectal y que los BDEs provenientes de diferentes células se superponen.

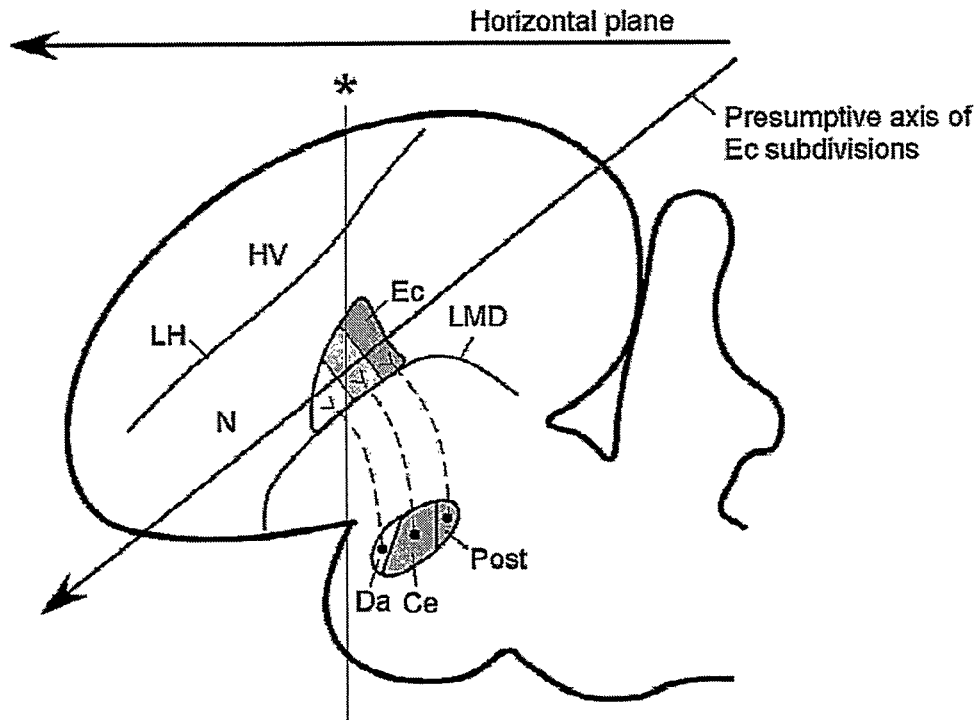


Figura 10. Diagrama que resume los resultados obtenidos por Laverguetta & Shimizu, (2003). De acuerdo a estos autores, la proyección rotundo entopalial se caracteriza por un arreglo zonal rostro caudal: cada subdivisión rotunda proyecta a una zona entopalial específica, conservándose el ordenamiento rostro caudal en la proyección. Tomado de Laverguetta & Shimizu, (2003).

1.5 La vía tectofugal en mamíferos

El tamaño y desarrollo del tectum óptico o colículo superior es variable en los diferentes ordenes de mamíferos. Este tamaño se puede correlacionar claramente con la dependencia visual del animal en su modo de vida. La rata por ejemplo, es un animal principalmente nocturno, por lo tanto posee una retina dominada por bastones y relativamente pobre en células ganglionares. Además depende muy poco de la visión, siendo un animal principalmente olfativo y auditivo en su vivir. En cambio las ardillas diurnas, aunque roedores también, poseen retinas dominadas por conos, ojos grandes y dependen principalmente de la visión en su modo de vida. Así, si comparamos el

desarrollo tectal de ambos animales, nos encontramos con un CS pobremente laminado y pequeño en la rata, en comparación a un CS grande con relación al volumen cerebral, muy desarrollado y con capas bien definidas en una ardilla. De hecho, los tamaños relativos de ambos cerebros son muy similares pero el CS es 10 veces mas grande en la ardilla de tierra que en la rata (Striedter, 2005), siendo el más grande proporcionalmente entre los mamíferos (Lane et al., 1971).

La proyección de la retina al CS en ardillas es muy sustancial, consistiendo en cerca de la mitad de los axones de todas las células ganglionares (Michael, 1973). El CS en ardillas y la mayoría de los mamíferos es diferente al de primates, en que contiene un mapa completo del espacio visual correspondiente a la retina contralateral (Lane et al., 1971; Kaas et al., 1974), tal como sucede en aves. En primates en cambio, el CS no contiene representación completa de la retina contralateral sino que sólo del hemicampo contralateral (Lane et al., 1973) y recibe aferencias sustanciales desde ambos ojos (Hubel et al., 1975).

La proyección de la retina sobre el CS esta restringida a las capas superficiales en la mayoría de los mamíferos (stratum zonale (SZ), stratum griseum superficiale (SGS) y stratum opticum (SO)). Otro rasgo común en los mamíferos es que la proyección retiniana es bilateral, donde los axones que componen las proyecciones ipsilaterales y contralaterales difieren en la cantidad, distribución en las capas superficiales y patrón de ramificación. En la mayoría de los mamíferos la proyección retinal sobre el CS contralateral termina sobre toda la extensión rostro caudal del CS. En contraste la vía

ipsilateral es mucho mas limitada en su distribución. La localización y tamaño de la proyección ipsilateral varia en los distintos ordenes de mamíferos, siendo muy escasa en roedores y mas extensiva en primates, lo que podría correlacionarse con el grado de frontalización ocular (Vega-Zúñiga & Mpodozis, 2008, observación no publicada).

Las eferencias del colículo superior son múltiples y abarcan prácticamente todas las partes del sistema nervioso central; sin embargo existe una partición funcional y por lo tanto anatómica del CS. Las capas superficiales del colículo están relacionadas con centros visuales, en cambio las capas mas profundas, bajo el stratum óptico, están interconectadas con diversas áreas, incluyendo centros motores relacionados con los movimientos de los ojos y la cabeza.

Los blancos de las células fugales que se encuentran en las capas superficiales del CS son similares entre diferentes especies (Harting et al., 1980; Holstege & Collewyn, 1982; Benevento & Standage, 1983). Datos de inyecciones de trazadores anterógrados en las capas superficiales del CS muestran que los axones fugales son primariamente ascendentes y sus blancos principales son núcleos pretectales, el complejo lateral posterior-pulvinar, el núcleo geniculado dorsal lateral, el núcleo geniculado lateral ventral y el núcleo parabigeminal, siendo estos dos últimos blancos primariamente descendentes.

La vía fugal más sustancial proveniente de las capas superficiales del colículo es la proyección al complejo lateral posterior-pulvinar. En el gato las capas superficiales proyectan principalmente a la división medial del núcleo lateral posterior (Graybiel &

Berson, 1980; Abramson & Chalupa; 1988); en ardillas las capas superficiales proyectan a la subdivisión caudal y rostral (Robson & Hall, 1977a); en *Tupaia* estas capas proyectan a dos divisiones del pulvinar (Luppino et al. 1988); en los primates, estas capas proyectan primariamente al pulvinar inferior (Benevento & Fallon, 1975c). Las cuerpos de las células proyectantes a estos núcleos se encuentran principalmente en el stratum griseum superficiale (SGS) y en ciertas especies en el borde superior del stratum opticum (SO). Major et al. (2000) llenó intracelularmente algunas células ubicadas en el SGS3 de la ardillas, como resultado ellos describieron árboles dendríticos con una morfología muy similar a aquellos de las células proyectantes al Rt en aves (Figura 11). Luppino et al. (1988) investigaron las proyecciones tectales al pulvinar en *Tupaia*, mediante inyecciones de trazadores anterógrados en el CS. Ellos observaron terminales tectales en toda la extensión de la división dorso caudal del pulvinar, sin importar la localización de la inyección en el SC. La división central en cambio, contenía parches irregulares y con poblaciones de terminales mucho mas densas que los vistos en la subdivisión dorso caudal. La distribución de estos parches varia concomitante con el sitio de inyección en el SC. Ellos llamaron a la proyección sobre la división dorso caudal “difusa” y la proyección sobre la división central “especifica”, asumiendo que la primera carecía de un topografía y que la segunda respondía a una proyección topográfica.

En la ardilla estudios de la conectividad del pulvinar caudal han mostrado que el núcleo se organiza en tres subdivisiones, cada una presentando un patrón de conectividad diferencial con el CS. Robson & Hall (1977a) investigaron las

proyecciones del colículo sobre el pulvinar mediante inyecciones de trazadores y lesiones en las diferentes subdivisiones del núcleo pulvinar y el CS. Sus resultados indican que existen tres subdivisiones en del núcleo, a saber, una división caudal que contiene neuronas grandes, que recibe aferencias bilaterales de las capas superficiales retino recipientes del CS; Una división rostro lateral que contiene células mas pequeñas, y que recibe aferencias ipsilaterales del colículo; finalmente una división rostro medial que no recibe aferencias del CS.

Recapitulando, la conectividad de la división caudal del pulvinar con el CS en la musaraña arborícola y en ardillas, es similar a la conectividad del núcleo rotundus en reptiles y aves con el tectum óptico. Estas correspondencias estructurales sugieren a esta división del pulvinar en mamíferos como candidato para la homología con el núcleo rotundus de reptiles y aves.

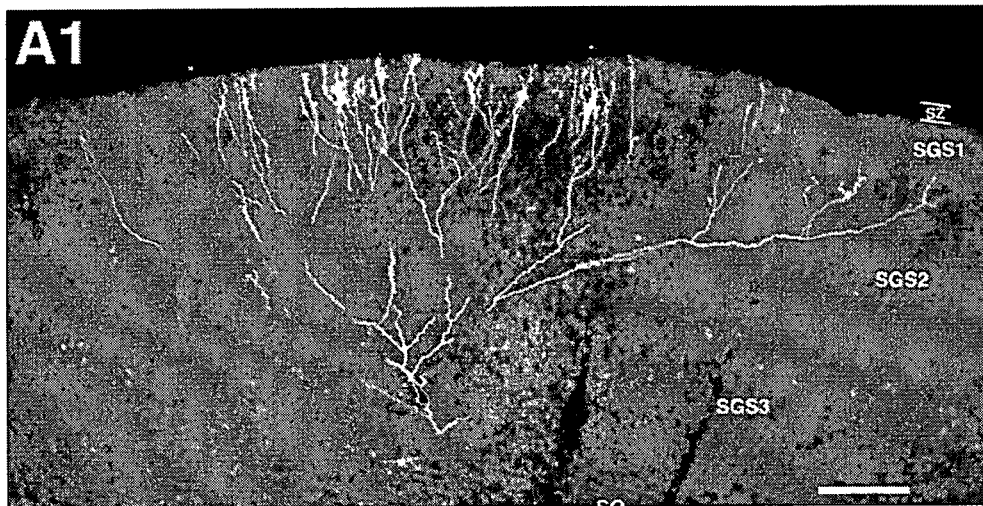
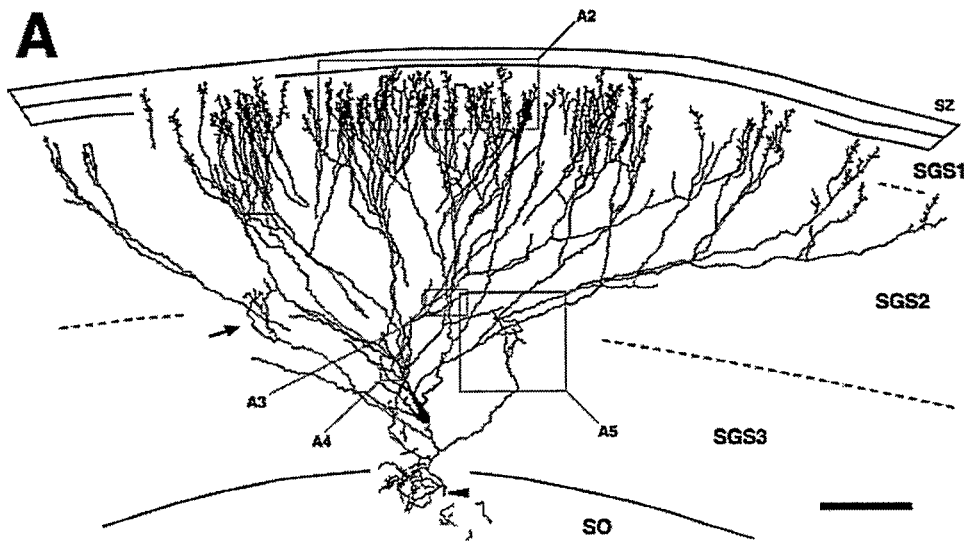


Figura 11. Reconstrucción mediante cámara lúcida y fotografías de las células tipo I en el SGS3 de ardilla. A: célula tipo I en la parte inferior del SGS3 (rebanada coronal, lateral a la izquierda). Arborización dendrítica es aproximadamente 2 mm de ancho. A1: imagen de campo oscuro de la sección que contiene al soma. Barras de calibración= 200 μ m. Tomado de Major et al. (2000).

1.5.1 Conexiones del Pulvinar con la corteza

Las divisiones del pulvinar recién descritas tienen aferencias y eferencias con zonas específicas de la corteza. La división caudal del pulvinar, que recibe aferencias tectales “difusas” según Luppino et al. (1988), proyecta y recibe terminales de la zona cortical temporo ventral (Tv) y el área 18 en *Tupaia*; En ardillas sin embargo, la división

caudal del Pulvinar que recibe una proyección bilateral inespecífica del SGS, sólo se conecta recíprocamente con el área temporo posterior (Tp) (Robson & Hall, 1977a). Se han descrito proyecciones recíprocas entre las áreas dorso temporal (Td) y 18 con la división rostral del Pulvinar en *Tupaia*, que recibe la proyección específica del SGC (Luppino et al., 1998). La subdivisión equivalente en la ardilla es la antero dorsal; según Robson & Hall (1977a) esta recibe una aferencia ipsilateral del SGC, y proyecta a las áreas 19 y 18; el área 17 y las áreas nombradas anteriormente son la fuente de las proyecciones corticales a esta división. Ninguno de los estudios anteriores han mostrado detalles de estas proyecciones. En particular la distribución laminar en la corteza de las aferencias y eferencias del pulvinar.

1.6 Problema General: el origen de la neocorteza

Un desarrollo evidente del telencéfalo es la formación superficial de capas de células nerviosas llamadas cortezas. Estas estructuras ocurren en varios grupos de vertebrados no mamíferos, pero consiguen un desarrollo particular en los mamíferos. Aves y reptiles poseen una corteza dorsal que se caracteriza por una organización trilaminar. Este tipo de estructura esta ausente en el telencéfalo de los anfibios. Formaciones corticales trilaminares están presentes también en el telencéfalo de los mamíferos, a saber, la corteza olfatoria o prepiriforme y la corteza hipocampal. Sin embargo en todos los mamíferos estas cortezas “simples”, están separadas por una formación cortical altamente compleja de seis laminas, y que, debido a su aparición tardía en la evolución es denominada neocorteza, la cual es responsable de la mayoría del incremento del

telencéfalo en la evolución de los mamíferos.

En todos los amniotas el telencéfalo palial recibe aferencias sensoriales principalmente desde dos tipos de núcleos del tálamo dorsal: el lemnotálamo y el colotálamo. El lemnotálamo corresponde a aquellos núcleos que reciben aferencias de sistemas ascendentes lemniscales o directamente de las células sensoriales (por ejemplo el geniculado dorsal lateral y tálamo somatosensorial). Los núcleos colotalámicos en cambio, reciben aferencias sensoriales desde el techo del mesencéfalo (por ejemplo el núcleo rotundus en aves y el geniculado medial en mamíferos) (Butler, 1994a,b). Esta segregación en el tálamo es conservada también a nivel del telencéfalo palial. En mamíferos el lemnotálamo proyecta a la porción medial/dorsal de la neocorteza, y en reptiles y aves este grupo talámico proyecta a la corteza dorsal. En cambio, el colotálamo en mamíferos proyecta a la porción lateral/ventral de la neocorteza. Sin embargo en reptiles y aves este grupo talámico proyectan a una estructura palial de organización nuclear, que se ubica ventral a la corteza dorsal. Esta masa celular protruye al ventrículo, razón por la que fue llamada el "Dorsal Ventricular Ridge" (DVR).

Esta dicotomía en las proyecciones sensoriales al telencéfalo palial entre reptiles/aves y mamíferos plantea un problema al momento de elegir una estructura en el telencéfalo de reptiles y aves homologa a la neocorteza de mamíferos.

Basándose principalmente en las correspondencias hodológicas antes mencionadas Harvey Karten en 1969, propuso la homología de la corteza lateral auditiva y visual extraestriada con el DVR de aves y reptiles, mientras que las cortezas mas dorsales y

caudales corresponderían a la corteza dorsal de reptiles. En otras palabras esta hipótesis (hipótesis neocortical del DVR) sugiere que en el ancestro común de mamíferos y reptiles existió una estructura similar al DVR y una corteza dorsal, las cuales en la emergencia del linaje mamífero se transformaron para dar origen a las partes que componen la neocorteza. Mientras que en el linaje de los amniotas no mamíferos la organización ancestral ha sido conservada hasta el presente (figura 57, A).

Sin embargo estudios de patrones de expresión de genes reguladores han resucitado una hipótesis originalmente propuesta por Holmgren (1925) la que propone al DVR como homólogo al complejo claustroramigdaloso (CA), el cual incluye al claustror y la región palial de la amígdala conocida como amígdala basolateral. La principal evidencia a favor de esta teoría proviene de que el DVR y al complejo claustroramigdaloso se desarrollan del mismo primordio o locus telencefálico. Esto fue aparente para Holmgren mirando secciones con tinción de Nissl de cerebros en desarrollo, y ha sido confirmado por técnicas de hibridación *in situ* de genes reguladores. Estos genes coexpresan en la región ventrolateral del telencéfalo palial de pollos y ratones, la que posteriormente se desarrolla como DVR y CA respectivamente (figura 58).

En vista de estas diferencias, no ha sido fácil determinar una estructura homóloga a la neocorteza en amniotas no mamíferos. En otras palabras, la pregunta de la ancestría de la neocorteza, o que estructura en el cerebro amniota ancestral le dio origen, no ha sido resuelta aun, después de dos siglos de estudios de neuroanatomía y neuroembriología comparada. Este problema se hace mas complicado aun por la ausencia de criterios y

compartidos para establecer homologías en estructuras neurales.

1.7 La vía tectofugal y sus implicancias en el problema del origen de la neocorteza

Bruce & Neary (1995) postularon que existen evidencias hodológicas que sostienen la hipótesis claustró amigdalóide del DVR. Uno de los argumentos centrales que los autores proponen para sostener que el DVR es similar a la amígdala lateral de mamíferos, es que ambas reciben proyecciones de núcleos talámicos recipientes del CS/ tectum óptico, y que ambos proyectan al estriado y la amígdala estriatal. En este contexto, un punto controversial es la presunta homología del complejo lateral posterior/pulvinar (LP/Pul) en mamíferos con el núcleo rotundus de reptiles y aves. De acuerdo a Bruce & Neary (1995), debido a que en mamíferos el núcleo proyectante a la amígdala lateral pertenece al complejo intralaminar, estos núcleos deberían ser considerados homólogos al núcleo Rt de reptiles y aves, y no el complejo LP/Pul. Algunos argumentos en esta línea han salido a la luz recientemente. Guirado et al. (2005), observó que las proyecciones telencefálicas del complejo intralaminar posterior del tálamo de los mamíferos pueden ser comparado con las proyecciones telencefálicas del núcleo Rt. Mas específicamente los autores argumentan que el núcleo supragenículado del ratón recibe una proyección bilateral desde las capas intermedias y profundas del SC, por lo que ellos lo comparan con la proyección tectorotundal en aves. Este núcleo además, comparte eferencias con el Rt al cuerpo estriado, la amígdala

basolateral y el claustrum. Estas últimas estructuras como antes se menciono, se postulan como homologas del DVR.

Por lo tanto si las correspondencias estructurales entre el núcleo rotundus en reptiles/aves y alguna división del complejo intralaminar en mamíferos apoyan su homología, entonces la teoría claustrum amigdaloides del DVR se ve fortalecida. Por otro lado si las correspondencias estructurales entre el núcleo rotundus en reptiles/aves y alguna división del complejo pulvinar en mamíferos apoyan su homología, entonces la hipótesis de neocortical del DVR se ve fortalecida.

Con estos antecedentes nosotros planteamos este proyecto, que tiene los siguientes hipótesis y objetivos:

2. Hipótesis

2.1 Hipótesis general

1. La división caudal del pulvinar de ardilla es homólogo al núcleo rotundus en aves y reptiles.

2.2 Hipótesis específicas

1. La proyección difusa desde el colículo superior a la división dorso caudal del pulvinar en ardillas es bilateral. Se origina de las células descritas por Major et al. (2000), y se caracteriza por una organización interdigitada similar a la encontrada en la proyección tecto rotundal en aves.
2. La proyección rotundo entopialial en aves, tiene una topografía “punto a punto” entre cada división rotundal y su respectiva zona entopialial. La proyección de la división caudal del pulvinar sobre la corteza extraestriada de ardillas se organiza de forma similar.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

-Clarificar la supuesta homología estructural entre la vía tectofugal en aves y la vía colopulvinar en mamíferos.

3.2 Objetivos específicos

1. Describir la topografía de la proyección rotundo entopalial en palomas, y compararla con la proyección división caudal del pulvinar a la corteza extraestriada en ardillas.
2. Resolver cuales células en el colículo superior, proyectan a la división caudal del pulvinar en ardilla.
3. Caracterizar la topografía de la proyección colo-pulvinar en ardillas.
4. Determinar qué núcleo en el tálamo dorsal de aves es el homólogo estructural a la división que recibe la proyección topográfica del colículo superior en ardillas.

4. Materiales y métodos

4.1 Selección del modelo animal

Las palomas han servido como modelo para estudiar el sistema visual de vertebrados en nuestro laboratorio desde hace ya varias décadas. El mundo perceptual en estos animales es principalmente visual, por lo que una gran proporción del cerebro está dedicado o tiene relación con la visión. Estos animales son diurnos, hecho que se ve reflejado en su retina dominada por conos y con una gran cantidad de ganglionares (2,4 millones de ganglionares; Mpodozis et al., 1995). Su gran abundancia y fácil manipulación experimental son otras grandes ventajas de este modelo

Los modelos clásicos para la investigación biológica han sido los roedores, en especial ratas y ratones, sin embargo para un estudio comparado del sistema visual, estos animales son inapropiados debido a que dependen muy poco de la visión en su vivir, lo que conlleva que posean un sistema visual poco desarrollado. Hemos elegido a la ardilla de tierra californiana por ser un animal visualmente activo y con un tectum óptico/ colículo superior muy desarrollado y bien laminado, siendo el más grande entre los mamíferos proporcional al volumen cerebral (Van Hooser & Nelson, 2006).

Estos animales poseen retinas dominadas por conos (95%) y poseen una excelente visión dicromática mediada por conos azules y verdes. Además ellos usan la visión para navegar en su ambiente, evitar predadores y buscar alimento, muy similar a la mayoría de las aves.

4.2 Experimentos con palomas

Veinticinco palomas adultas (*Columba livia*) de 300-350 gr. de peso de ambos sexos fueron usadas en estos experimentos. Estos animales fueron obtenidos de un vendedor local y fueron mantenidos en un vivario de la universidad. Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile y están en concordancia con estatutos sobre el uso animales en experimentación científica de la NIH.

Las palomas fueron anestesiadas profundamente con una mezcla de ketamina y xilazina (5 mg/kg) y fueron colocadas en la posición estereotáxica estándar (Karten & Hodon, 1967) en un aparato estereotáxico especialmente diseñado, que no interfiere con el campo visual del animal. La anestesia fue mantenida aplicando 30% de la dosis inicial cada 2 horas a través de una cánula intramuscular. Luego de que el animal fue anestesiado y posicionado en el aparato estereotáxico, se expuso el cráneo mediante una incisión de la piel, y dependiendo del experimento, se practicó una craneotomía para exponer el telencéfalo dorsal por sobre la localización aproximada del núcleo rotundus o el entopallio. Se realizaron inyecciones de diferentes trazadores en estas estructuras de acuerdo a los procedimientos descritos abajo. Luego de las inyecciones, las heridas fueron cubiertas, suturadas y tratadas con antibióticos locales. Durante el experimento, el latido cardiaco fue monitoreado constantemente, y se mantuvo una temperatura de 40-42°C mediante una manta eléctrica termoregulada. Durante la cirugía y

recuperación, todas las heridas y puntos de presión fueron tratados con un gel comercial de lidocaína 5%.

En un primer set de experimentos, trazadores fluorescentes y liposoluble Dil y True Blue fueron inyectados en el entopallio de 18 animales. Con la intención de producir inyecciones pequeñas, bien definidas y minimizar la difusión del trazador, estos fueron inyectados en su forma sólida y cristalina por medio de un aparato microinyector de trazadores sólidos (Marín et al., 2001). Resumidamente el microinyector consiste en una aguja hipodérmica punta roma de 36-gauge, equipada con un bastón interno movable el cual esta conectado a una cámara de presión similar a una jeringa. Cuando un pulso de gas a presión es aplicado en la cámara, el bastón se mueve hacia fuera y adentro en la aguja, empujando un sólido previamente cargado en la punta de la aguja. Para llevar a cabo las inyecciones el microinyector cargado con el trazador y un microelectrodo (1 M Ω) adherido a la aguja, fue ajustado en un micromanipulador hidráulico y luego estereotáxicamente posicionado e introducido en el entopallio. Las señales electrofisiológicas fueron amplificadas (AM systems model 1800) y monitoreadas en un osciloscopio (Tektronix, 5113) acoplado a un monitor de audio. Los estímulos visuales fueron generados en un sistema computacional desarrollado en el laboratorio. Una vez que el entopallio fue electrofisiológicamente identificado, la inyección fue hecha aplicando un tren de pulsos de presión de acuerdo a parámetros estimados previamente (para detalles ver Marín et al., 2001). La fuente de presión fue un tanque de N₂ a 1000 psi, la presión y los pulsos fueron regulados a través de un picospritzer hecho en el

laboratorio. Luego de un periodo de 3-5 minutos post inyección el microinyector fue retirado muy lentamente.

En un set separado de experimentos, el trazador anterógrado BDA fue inyectado por presión de aire en el núcleo rotundus. Para llevar a cabo esto, pipetas de vidrio de 15 mm de diámetro de punta fueron llenadas con una solución al 1% de BDA con buffer fosfato. Luego de 5-10 días de sobrevivencia, todos los animales fueron profundamente anestesiados con una sobredosis de una mezcla de ketamina y xilazina y perfundidos vía carótidas con 500-800 ml de ringer de ave, seguido de 1000 ml de una solución fría (10 °C) de paraformaldehído al 4% en 0,1 M buffer fosfato (pH 7.2). Luego de la perfusión, los cerebros fueron extraídos y post fijados durante una noche en la solución de paraformaldehído, y luego transferidos a una solución de sacarosa al 30% por 2-3 días con el propósito de crioproteger el tejido. Luego los cerebros fueron montados en el plano estereotáxico sobre la plataforma de un micrótopo de congelación, y se cortaron secciones de 45 micrones en el plano transversal o sagital dependiendo del experimento. En los casos de inyecciones de trazadores fluorescentes, las secciones fueron inmediatamente montadas y cubiertas usando una solución de 50% de glicerol en suero salino de ave. En los casos de inyecciones de BDA, el tejido colectado fue procesado de acuerdo al método avidina-biotina-peroxidasa (ABC Elite Kit; Vector). En todos los casos, algunas series seleccionadas fueron procesadas con tinción Nissl para un análisis posterior. Las secciones fueron examinadas y fotografiadas usando una cámara digital a color (Spot Digital Camera; Diagnostic Instrument) acoplada un microscopio

convencional epifluorescente (Olympus Bx 60). Dependiendo de el trazador usado, las imágenes digitales fueron tomadas en canales monocromáticos azul o rojo, ajustando el tiempo de exposición de la cámara de manera que las células mas intensamente marcadas tuvieran el valor de píxel mas alto (255), manteniendo esta configuración de la cámara para todas las fotografías en un animal dado. Las fotografías fueron transferidas a Adobe Photoshop CS3 y combinadas para reconstruir la sección completa. Las secciones reconstruidas fueron dibujadas en otra capa, y se marco la posición de cada célula en esa capa. La forma y trayectoria de los axones al interior del entopallio fueron reconstruidos usando una cámara lucida montada en un microscopio Olímpus Bx61.

4.3 Experimentos con ardillas

Veintiocho ardillas californianas adultas (*Spermophilus beecheyi*) de peso entre 400 y 700 gramos incluyendo machos y hembras, fueron usadas en este estudio. Todas fueron atrapadas de acuerdo a permisos estatales y usadas en concordancia con la guía para animales de experimentación del Comité de Uso y Cuidado Animal de UCSD. Los animales fueron anestesiados con una mezcla de ketamina (50 mg/kg IM) y xilazina (10 mg/kg IM). La anestesia fue mantenida durante la duración del experimento (3 a 4 horas) inyectando 10 % de la dosis inicial cada 15 min. Durante la cirugía y recuperación, todas las heridas y puntos de presión fueron tratados con un gel comercial de lidocaína 5%.

Una vez anestesiados los animales fueron pesados y rasurados en la sección del cráneo

a ser expuesta y posteriormente montados en un aparato estereotáxico diseñado para roedores (Köpf instruments). Una vez montados se les expuso el área del cráneo necesaria mediante una incisión de la piel y retracción de los músculos que obstruyen el área; luego dependiendo del experimento una craneotomía fue realizada para exponer la corteza temporal posterior, la corteza sobre el colículo superior o la corteza sobre el complejo pulvinar. Para el caso de los experimentos de inyecciones del colículo superior y complejo pulvinar un microelectrodo (1 M Ω) fue ajustado en un micromanipulador hidráulico y luego estereotáxicamente posicionado e introducido en la estructura. Las señales electrofisiológicas fueron amplificadas (AM systems model 1800), monitoreado en un osciloscopio (Tektronix, 5113) acoplado a un monitor de audio. Los estímulos visuales fueron generados con un puntero láser. Una vez que la estructura fue electrofisiológicamente identificada una pipeta de vidrio cargada previamente con BDA (Molecular Probes, 10% en buffer fosfato 0.1M) y/o CTb (List Biological Laboratories, 0.5% en buffer fosfato 0.1M) fue ajustada al manipulador e introducida en las coordenadas y profundidad identificadas anteriormente. Luego la inyección fue hecha aplicando un tren de pulsos de presión de acuerdo a parámetros estimados previamente y de acuerdo al tamaño de la inyección requerido. La fuente de presión fue un tanque de N₂ a 1000 psi, la presión y los pulsos fueron regulados a través de un picospritzer II (General Valve). Luego de un periodo de sobrevida de 5-7 días, las ardillas fueron profundamente anestesiadas con una sobredosis de la mezcla ketamina-xilazina y perfundidas a través del corazón con aproximadamente 1 lt de ringer salino (0.9 %),

seguido de 500-800 ml de una solución de paraformaldehído al 4% en PB.

Luego de remover el cerebro del cráneo, este fue dejado en la misma solución por una noche y al día siguiente transferido a una solución de sucrosa al 30% en PB hasta que se hunda. Los cerebros fueron cortados en el plano transversal a 40 μm procesados con técnicas inmunohistoquímicas para revelar a distribución de CTb y/o BDA con el método de avidina-biotina-peroxidasa. Los detalles de estos procedimientos han sido descritos en otros manuscritos (Shimizu et al, 1994; Coolen et al, 1999). Resumidamente para el caso del CTb, las secciones fueron incubadas con anticuerpos contra CTb (hechos en cabra, a una dilución de 1:20.000), seguido de un anticuerpo secundario biotinilado (Vector laboratories, Burlingame, CA; anti gota IgG, hecho en conejo, a una dilución de 1:200). Luego el tejido fue tratado con una peroxidasa acoplada con avidina (Vector ABC kit) y por último el tejido fue expuesto a diamino benzidina como cromógeno. Para el caso de BDA sólo la peroxidasa acoplada con avidina y la diamino benzidina fueron utilizadas dado que el trazador es biotinilado. Dos de seis series fueron reaccionadas para CTb, otras dos para BDA y una de cada una de las series reaccionadas fueron contrateñidas con Giemsa para revelar los cuerpos celulares; otra sección fue usada de las series sin reaccionar fue tratada con cresil violeta (tinción de Nissl) para revelar la citoarquitectura.

Las secciones completas fueron dibujadas usando un macroproyector y luego escaneadas y digitalizadas en Adobe Photoshop. Material seleccionado fue fotografiado usando un microscopio convencional epifluorescente (Olympus Bx 61) con una cámara

digital a color acoplada y software (Spot Digital Camera; Diagnostic Instrument). Todo el procesamiento fotográfico, anotaciones, reconstrucciones, y ensamblaje de figuras fue hecho en Adobe Photoshop.

5. Resultados

5.1 Anatomía de la vía tectofugal

5.1.1 Definición y subdivisión del entopalio

El entopalio (E) de la paloma es una estructura telencefálica palial que es el destino de los axones provenientes del núcleo rotundus en el tálamo. Para comenzar el estudio de las relaciones topográficas de esta vía, nosotros quisimos definir los límites del E citoarquitectónicamente y hodológicamente. El E se ubica inmerso en una estructura palial de mayor dimensión llamada el nidopalio (N); el borde ventral del entopalio es evidente, dado que limita con el subpalio o estriado lateral el cual es citoarquitectónica y citoquímicamente diferente (Smeets et al., 2000).

Krutzfeld & Wild (2004) proponen que la opacidad diferencial de el E en el Zebra finch (*Taeniopygia guttata*) es un criterio consistente para definir los límites del núcleo. Nosotros en una primera aproximación realizamos cortes sagitales de un cerebro no inyectado y los montamos en agua para fotografiarlos; en la zona del nidopalio donde se encuentra el E se observa una estructura de mayor opacidad que parece coincidir con los límites del E definidos en el atlas de la paloma (Karten & Hodos, 1967) (Figura 12, A4-A6). Estos mismos cortes fueron posteriormente sometidos a una tinción de Nissl; nuestras observaciones nos llevan a concluir que el E no presenta una partición rostrocaudal ni dorsoventral evidente a partir de una distribución, tamaño y morfología de los cuerpos celulares observada en el tejido con tinción Nissl (Figura 12, A1-A3). Esta tinción tampoco reveló una distinción clara en el límite dorsal del E. Antes bien, se

puede observar una homogeneidad celular la que hace muy difícil distinguirlo del resto del N.

En un segundo experimento realizamos el mismo procedimiento pero esta vez el cerebro fue cortado en el plano transversal con la intención de observar algún indicio de partición dorso-ventral. El tejido fotografiado fresco mostró opacidad diferencial en la región del E (figura 12, B4-B6) como era de esperarse por los cortes sagitales. El tejido posteriormente procesado con la tinción Nissl, es homogéneo en cuanto a tamaño y densidad celular con el N, por lo que no muestra ningún indicio de partición y los límites del E no son claramente identificables por medio de diferencias citoarquitectónicas.

Luego llevamos a cabo un segundo set de experimentos con el objetivo de conocer los límites del E de acuerdo a sus aferencias desde el núcleo rotundus y además averiguar si se evidencia algún tipo de partición o subdivisión del núcleo a partir de la densidad o cualidades de los terminales rotundales.

Este experimento consistió en una inyección triple de BDA que llenó completamente el núcleo Rt. El trazador difundió además a algunas estructuras del tálamo dorsal como el OPT, que sin embargo no constituyen contaminación y son irrelevantes para nuestro estudio, debido a que las proyecciones del tálamo al E provienen exclusivamente del núcleo Rt (Benowitz & Karten, 1976). Como resultado de esta inyección se puede observar una marca muy densa de terminales en el E (Figura 13: A1, B1, C1) que coincide con el área de mayor opacidad de la figura 12. Un análisis a mayor aumento revela una densidad diferencial de los terminales en el E. Una región anterior con una

distinguible forma de gota de mayor densidad de terminales, es evidente en la parte más lateral del E (Figura 13: A2 y B2). La zona más medial del E presenta una zona anterior de mayor densidad de terminales pero de forma lenticular y ocupando solo la parte ventral anterior del E. (figura 13, C2).

La región posterior del E también presenta una zona de mayor densidad de terminales que delinean una posible subdivisión. Esta tiene una forma lenticular y ocupa la parte dorsal posterior del E (figura 13: A2, B2). Sin embargo esta posible subdivisión abarca una porción central del E en el eje rostro caudal, y más cerca de la línea media (figura 13, C2). La región intermedia entre estas dos subdivisiones presenta una densidad menor de terminales y en los cortes más laterales se distinguen en ella una región ventral (de mayor extensión) y una región dorsal de menor extensión formando un triángulo cuyos lados son: el límite con el estriado y las subdivisiones anterior y posterior (figura 13: A2 y B2). Esta región central es similar a un trapecio en cortes más cerca de la línea media, que esta delineado también por los límites de las subdivisiones anterior y posterior y el borde dorsal del estriado (figura 13, C2).

En resumen, los terminales del núcleo Rt en el E dibujan una estructura cuyos límites coinciden con los sugeridos por la opacidad diferencial en el tejido montado en agua, y las diferencias en densidad de los terminales sugieren una partición rostro caudal del E, con tres divisiones presumibles: anterior, central y posterior.

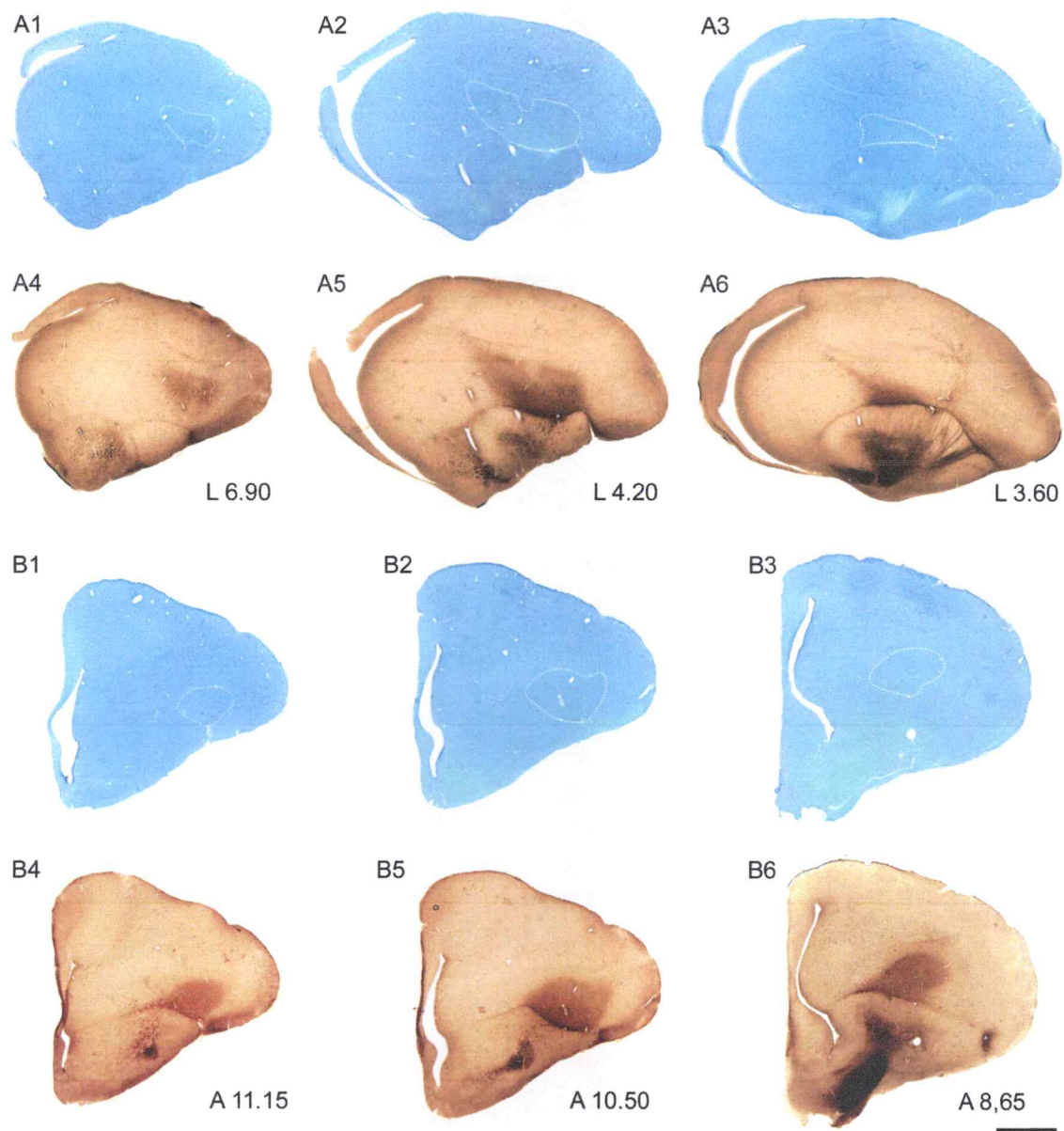


Figura 12. Serie de cortes transversales y sagitales a nivel del telencéfalo de la paloma identificando la región correspondiente al entopallio por opacidad diferencial. A4-A6: serie de cortes sagitales a nivel del telencéfalo montados en agua inmediatamente luego del corte. Note la zona central correspondiente al E que se evidencia por su mayor opacidad. A1-A3: corresponden a los mismos cortes anteriores pero tratados con una tinción Nissl. El E es dibujado con línea discontinua siguiendo la zona de mayor opacidad en A3-A6. B4-B6: serie de cortes transversales montados en agua evidenciando el E por su opacidad diferencial. B1-B3: los mismos cortes tratados con una tinción Nissl. El E es dibujado con línea discontinua siguiendo la zona de mayor opacidad de las series B4-B6. Las coordenadas estereotáxicas antero posteriores y latero mediales aproximadas están indicadas en la esquina inferior derecha de las figuras A4-A6 y B4-B6. La barra de calibración corresponde a 1mm. aplica para toda la figura.

5.1.2 Topografía zonal en la proyección rotundo entopialial

Luego quisimos comprobar la existencia de estas subdivisiones mediante inyecciones localizadas de BDA en las diferentes divisiones del núcleo Rt. Nuestros primeros experimentos estuvieron dirigidos a la división Ce del núcleo Rt; una inyección que involucra principalmente la región dorsal de Ce pero el trazador difunde levemente a parte de Post (figura 14, A) genera un parche de terminales en la región dorsal del E manteniendo la región anterior completamente libre de marca anterógrada (figura 14, B). Este parche sin embargo, no es homogéneo en su extensión dorso ventral, la región central del E contiene la zona más gruesa del parche, con una sección más fina extendida hacia la región anterior del E, y otra menos extensa hacia caudal. Sin embargo no se observan terminales en la mitad más ventral del E, es decir el área más próxima al límite con el estriado lateral.

En un segundo experimento, la inyección se localizo en la parte ventral de Ce (figura 14, C). Luego de esta inyección el transporte anterógrado quedó restringido a la región ventral del E. En concordancia con el experimento previo, la región anterior quedo libre de terminales (figura 14, D).

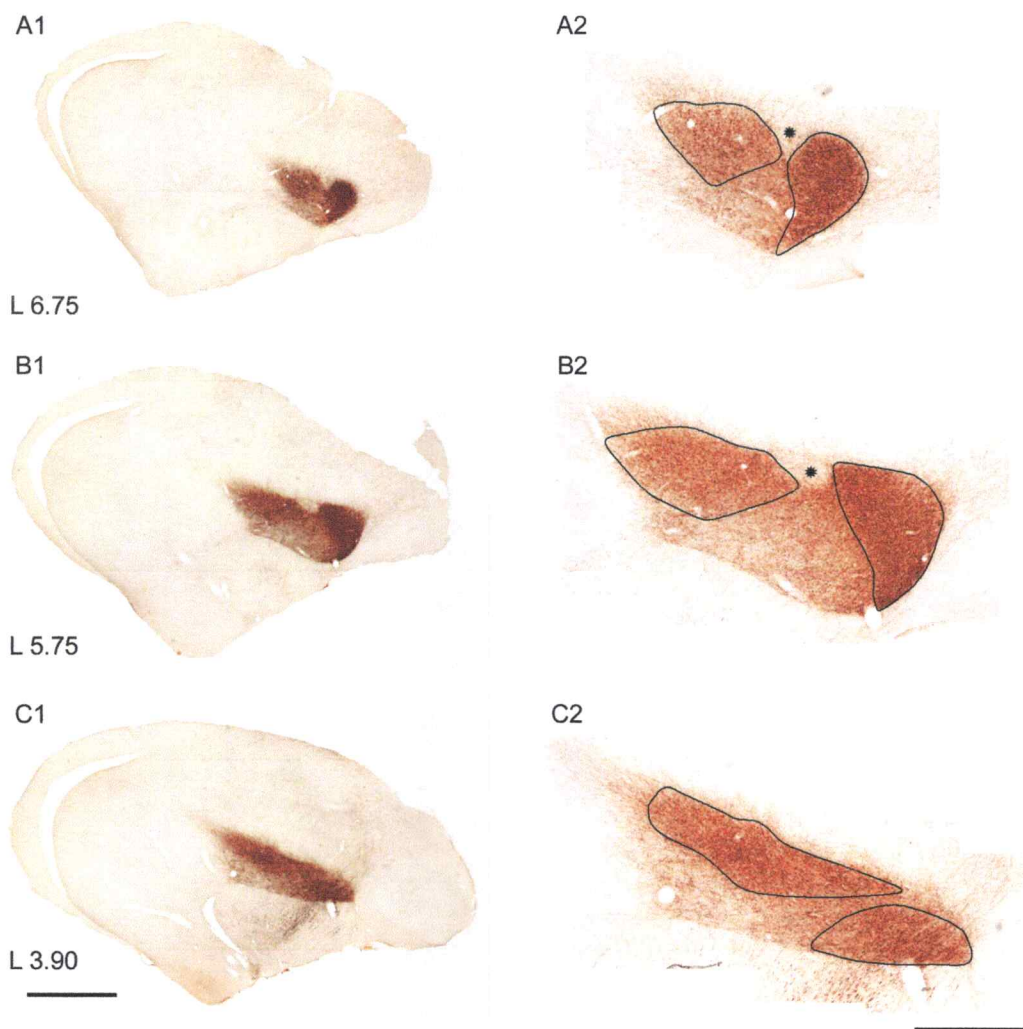


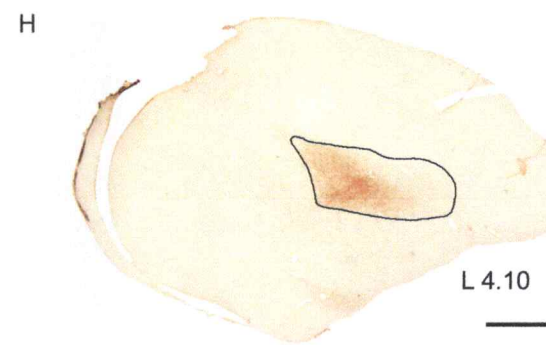
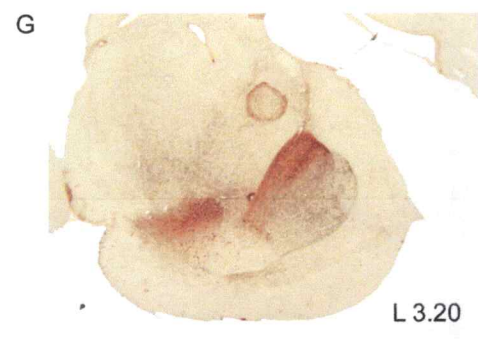
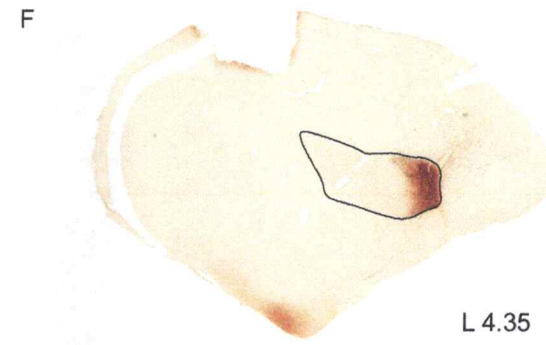
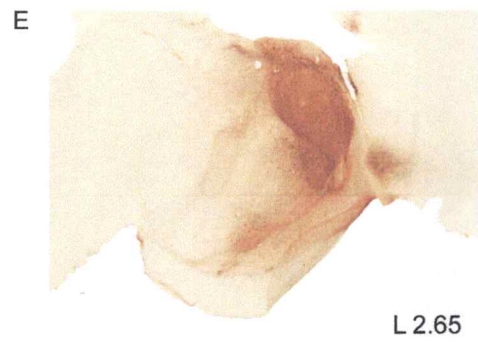
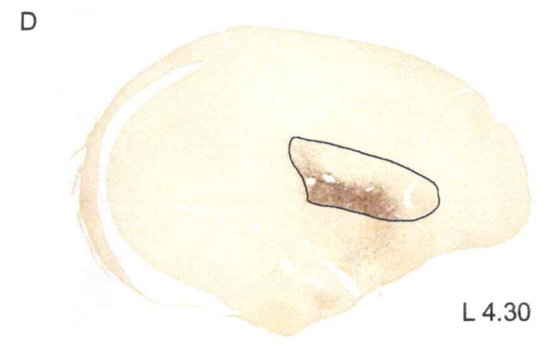
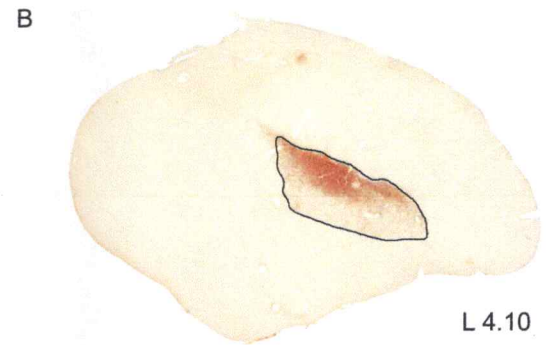
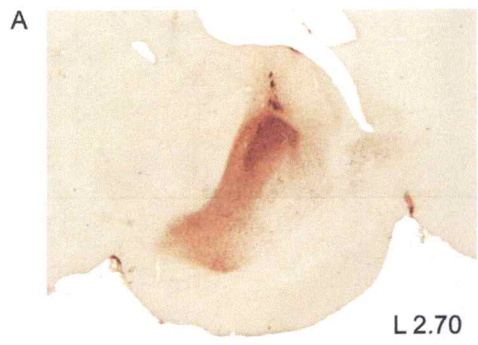
Figura 13. Fibras anterógradamente marcadas en el E como resultado de una inyección triple de BDA que abarca la totalidad del núcleo Rt ipsilateral. Columna izquierda: microfotografías de cortes sagitales a diferentes niveles del telencéfalo; las coordenadas estereotáxicas latero mediales están indicadas en la esquina izquierda inferior de cada sección. Note la zona ausente de fibras en la región dorsal del E indicada con una cabeza de flecha. Columna derecha: composiciones de microfotografías a mayor aumento de la misma sección correspondiente en la izquierda. Las regiones caudal y rostral que son inervadas por una mayor densidad de terminales del Rt están delineadas. Note la región con menor densidad de terminales en la parte central del E indicada con un asterisco. Barra de calibración en C1 equivale a 1 mm. (aplica para A1-B1) barra de calibración en C2= 2 mm. (aplica para A2-C2).

En otro experimento la inyección se localizo en el tálamo rostral, involucrando exclusivamente a la división Da del núcleo Rt. Esta inyección produjo un marcaje anterógrado restringido a la región anterior del E que se asemeja a una gota (figura 14, E, F) dejando el resto del núcleo totalmente libre de fibras o terminales. Es posible observar fibras saliendo del E con dirección oblicua hacia la región dorsal del telencéfalo. Estas fibras pueden ser producto de que el deposito abarca una región del tálamo dorsal llamada núcleo óptico talámico principal (OPT), el cual envía sus fibras hacia la corteza dorsal o Wulst, las que corresponderían con los axones recién descritos.

Finalmente llevamos a cabo una inyección de BDA localizada en Post. Aunque el trazador difundió levemente hacia Ce, el transporte anterógrado se localiza principalmente en la parte posterior del E. Los terminales que se observan en la región más medial del E es probablemente debido a la difusión del trazador a Ce (figuras 14, G y H).

En resumen, estos resultados confirman la organización zonal en la proyección rotundo entopalial en el eje rostro caudal. Se sugiere además que la división central del E posee dos subdivisiones, una ventral y otra dorsal.

Figura 14. (pagina siguiente) Topografía zonal de la proyección rotundo entopalial. Cortes sagitales que muestran inyecciones de BDA en diferentes regiones del núcleo Rt y la localización de los terminales en las diferentes zonas del núcleo E en el telencéfalo. A: muestra una inyección de BDA que abarca la parte superior de la subdivisión Ce principalmente y en menor densidad la subdivisión Post. B: muestra el área de terminación de los axones rotundales correspondientes a la inyección en A. Note que la marca se ubica en la parte dorsal caudal del E y que la región anterior esta libre de terminales. C: muestra una inyección de BDA en la región ventral de la subdivisión Ce del núcleo Rt. D: muestra la localización de los terminales retrógradamente marcados, los que se encuentran circunscritos a la región ventral de entopalio. E corresponde a una inyección que abarca una gran parte del tálamo anterior pero que solamente involucra la subdivisión rostral del núcleo Rt; la marca anterógrada resultante de esta inyección se muestra en F, y corresponde exclusivamente a la región anterior del E. G: muestra una inyección en la región posterior del Rt. H: muestra que los terminales resultantes de esta inyección se localizan solamente en la parte posterior del E. La barra de calibración corresponde a 1mm. Las coordenadas estereotáxicas latero mediales aproximadas están indicadas en la esquina inferior derecha.



5.1.3 Topografía “punto a punto” en la proyección rotundo entopalial

Los experimentos de BDA demostraron la existencia de una topografía zonal en la proyección rotundo entopalial. A continuación nosotros quisimos saber si existe una topografía fina dentro de cada subdivisión del Rt y su correspondiente zona recipiente en el E. Para este propósito los trazadores líquidos no son una buena alternativa por la dificultad de producir inyecciones pequeñas y localizadas debido a su elevado grado de difusión. Esta es la razón por la que utilizamos trazadores fluorescentes liposolubles (DiI y True Blue) inyectados en estado sólido cristalino.

En un primer experimento se realizó una inyección doble de True Blue y DiI en la región anterior del E. El cristal de True Blue se ubica hacia la región lateral del núcleo en cambio el de DiI hacia la región medial (figura 15). La dimensión de los cristales no supera los 50 μm de diámetro y hay una distancia de 100 μm entre ellos. Como resultado de estas inyecciones se distinguen cuerpos celulares retrógradamente marcados que se ubican exclusivamente en la subdivisión dorsal anterior del rotundus (Da). Es posible distinguir dos grupos de células bien definidos de acuerdo al trazador transportado: aquellas marcadas con True Blue se ubican en la región lateral de Da, en cambio las marcadas con DiI se ubican en la región medial de Da sugiriendo un cierto arreglo topográfico en la subdivisión. Estos grupos se superponen en la región central de Da generando algunas células doble marcadas (figura 15).

En un segundo set de experimentos realizamos dobles inyecciones en la región central del E. La figura 16 muestra el sitio de inyección y los resultados de un caso

representativo donde el cristal de True Blue se ubica más cerca de la línea media, en cambio el de DiI 100 μm más hacia medial y aproximadamente 100 μm más ventral. Los grupos celulares retrógradamente marcados en el Rt se ubican principalmente en la subdivisión centralis con algunas células en las subdivisiones posterior y triangularis, lo que es consistente con la topografía zonal en la proyección. Además los dos grupos se segregan claramente de acuerdo a la posición de los cristales: las células marcadas con True Blue están ventrales y laterales mientras que los somás tomaron DiI se ubican más mediales y dorsales en la subdivisión Ce del Rt. La proporción de células doble marcadas es muy baja comparado con el experimento de la figura 15.

En el siguiente set de experimentos realizamos dobles inyecciones en la región caudal del E. En este caso la figura 17 esquematiza el sitio de inyección y los resultados de un caso representativo. El cristal de True Blue se ubicó más más cerca de la línea media, mientras que el cristal de DiI quedó ubicado 150 μm hacia lateral y unos 100 μm más ventral. Las células retrógradamente marcadas en el Rt, consistentemente con la topografía zonal se ubican exclusivamente en Post y pueden distinguirse claramente dos grupos celulares: las células marcadas con DiI se ubican en la región ventro lateral de Post, en cambio los somata marcados con True Blue se ubican hacia la región dorso medial de Post (figura 17) sugiriendo una topografía más fina dentro de esta subdivisión.

Con el objetivo de verificar la organización topográfica dentro de las subdivisiones del Rt y las zonas entopaliales sugerida por los resultados anteriores, realizamos un experimento en que posicionamos los cristales de DiI y TB a menos de 40 μm de

distancia uno de otro dentro de la zona media del E (figura 17). El cristal de DiI quedo ubicado hacia la línea media y el cristal de TB hacia lateral y unos 50 μm más ventral. tal como en los experimentos precedentes de dobles inyecciones, se distinguen dos grupos de células retrógradamente marcadas según el trazador transportado. Las células marcadas se ubicaron mayoritariamente en Ce con algunas células en Tr, consistentemente con la topografía zonal. En este caso los grupos celulares no tienen límites claros como en los casos descritos anteriormente, sin embargo es evidente una orientación correspondiente con la posición topológica de los cristales en el E. Las células marcadas con DiI tienden a estar más dorsales que las células marcadas con TB. La superposición de los grupos es mucho mayor que en los casos anteriores y la cantidad de células doble marcadas es también muy superior, lo que se correlaciona con la cercanía de los cristales en el E, y con un arreglo topográfico en la proyección (figura 18).

Finalmente, realizamos un experimento de doble inyección en la región central del E donde el cristal de DiI se ubica más cercano a la línea media y el de TB a 500 μm de distancia hacia lateral y unos 50 μm hacia ventral (figura 19). En este caso los grupos celulares están claramente definidos y se ubican principalmente en Ce aunque algunas células aparecen en Tr. Las células marcadas con DiI se ubican en la región dorsal de Ce y Tr, el grupo de células marcadas con TB en cambio se ubica en la región latero ventral de Ce. La posición de los grupos celulares marcados se correlaciona con la posición topológica de los cristales en el E, ya que los límites de los grupos están a 100 μm de

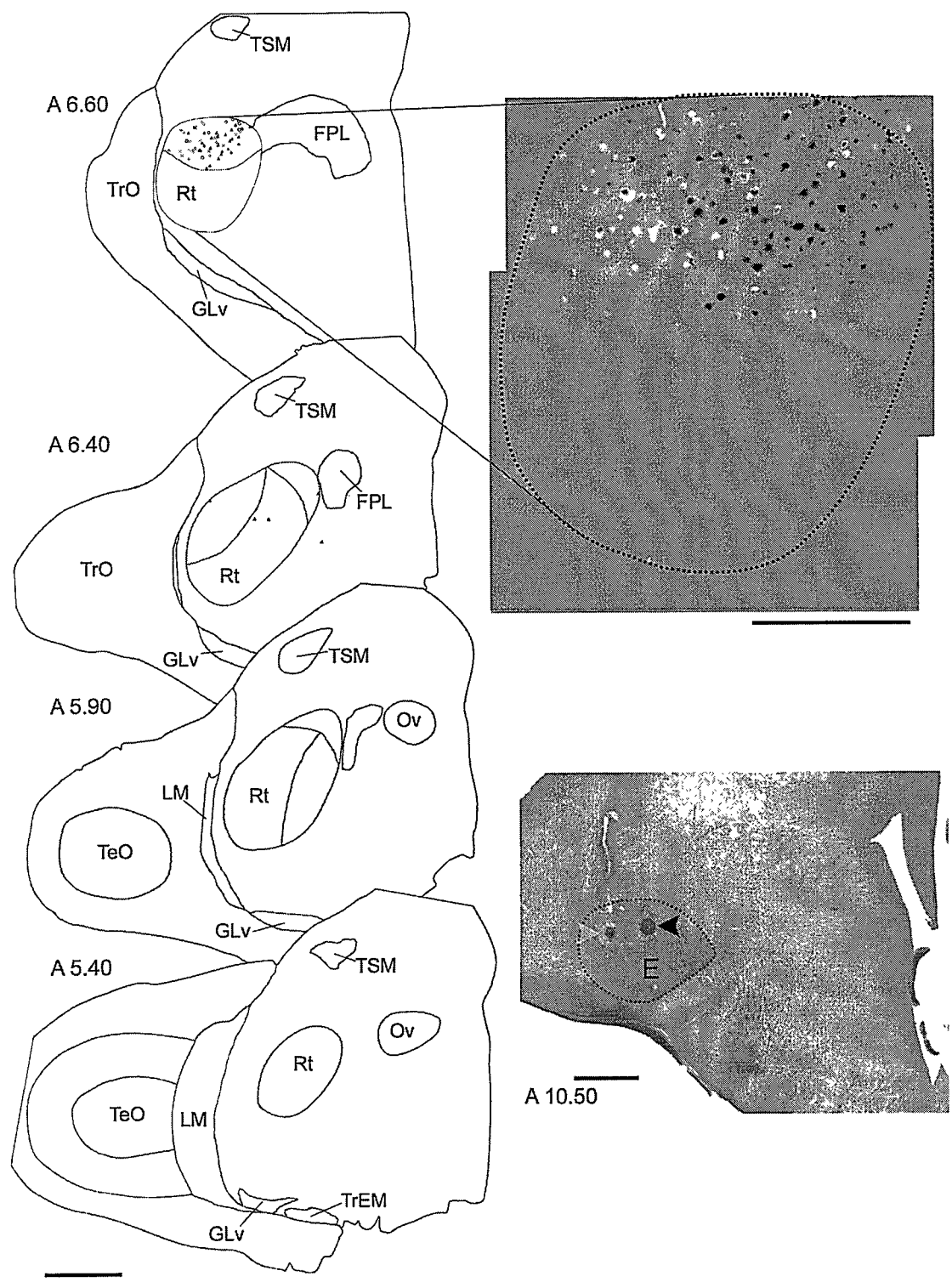
distancia y no hay superposición ni evidencia de células doble marcadas, resultado que es consistente también con un arreglo topográfico en la proyección (figura 19).

En total se realizaron 11 casos con inyecciones de trazadores cristalinos en el E, de los cuales 7 fueron inyecciones dobles y 4 simples. En un intento de estandarizar y resumir los resultados de todos los casos, medimos la distancia de los cristales con el límite medial del E, que corresponde a la medición "b" de la figura 20, y luego la distancia total del E entre los límites medial y lateral, lo que corresponde a la medición "a" de la figura 20. El cociente entre "b" y "a" es la distancia normalizada (d) de ese cristal con el límite medial del E. Luego se repitió el procedimiento para el grupo celular marcado con ese trazador en el Rt, con la diferencia que la distancia "a" se midió desde el centro geométrico aproximado de la agrupación celular al límite medial del Rt. Estos dos valores corresponden a un punto en el gráfico de ejes latero medial en la figura 20. Por lo tanto dicho gráfico resume como se mueve el grupo celular en el eje latero medial del Rt con respecto al movimiento del cristal en el eje latero medial del E en los 11 casos realizados. Este mismo procedimiento se llevo a cabo para los ejes dorso ventral y antero posterior. Para este ultimo sin embargo, la medición fue una estimación de la coordenada estereotáxica correspondiente por medio de la identificación de estructuras representativas de la sección en estudio. De esta manera se generaron 9 gráficos con todas las combinaciones posibles de los ejes. Luego aplicamos una regresión lineal para todos los gráficos los cuales entregaron un valor de coeficiente de correlación (r) característico para cada gráfico. Los coeficientes de correlación fueron significativos

($r > 0.4$) para las nubes de puntos correspondientes a los ejes latero medial en Rt con latero medial en E, dorso ventral en Rt con dorso ventral en E y antero posterior en Rt con antero posterior en E (figura 20); todas las demás regresiones dieron valores de r no significativos ($r > 0.3$). Este análisis sugiere fuertemente la existencia de una topografía fina en la proyección de cada subdivisión del Rt a su correspondiente zona entopalial.

Figura 15. (pagina siguiente) Distribución de células marcadas retrógradamente en el núcleo Rt, luego de una inyección de trazadores cristalinos en el entopallio. La fotografía a la derecha muestra la posición de los cristales en el E en una sección transversal, las cabezas de flecha negra y gris indican los cristales de DiI y True Blue respectivamente. La columna izquierda muestra dibujos de las secciones transversales representativas donde se muestran todas las subdivisiones del Rt. Los cuerpos celulares marcados con DiI y True Blue se representan como triángulos negros y cuadrados grises respectivamente, círculos indican las células doblemente marcadas. A la derecha se muestra una microfotografía de fluorescencia correspondiente a la sección de dibujo a la izquierda. De modo de mostrar la imagen en blanco y negro se realizó una modificación del contraste, en la que los puntos negros y blancos representan las células marcadas con DiI y True Blue respectivamente. Las barras de calibración para la columna de la izquierda y el sitio de inyección corresponden a 1mm. La barra de calibración de la fotografía de fluorescencia corresponde a 500 μm . (Esta descripción aplica para las figuras 13 a la 17).

Esta figura muestra una inyección doble a nivel de la región caudal del E y las células retrógradamente marcadas en la subdivisión posterior del núcleo Rt. Note que las células están exclusivamente distribuidas en Post con la excepción de tres células en la subdivisión triangularis. Note también las relaciones topográficas entre la posición de los cristales y la ubicación de los grupos celulares.



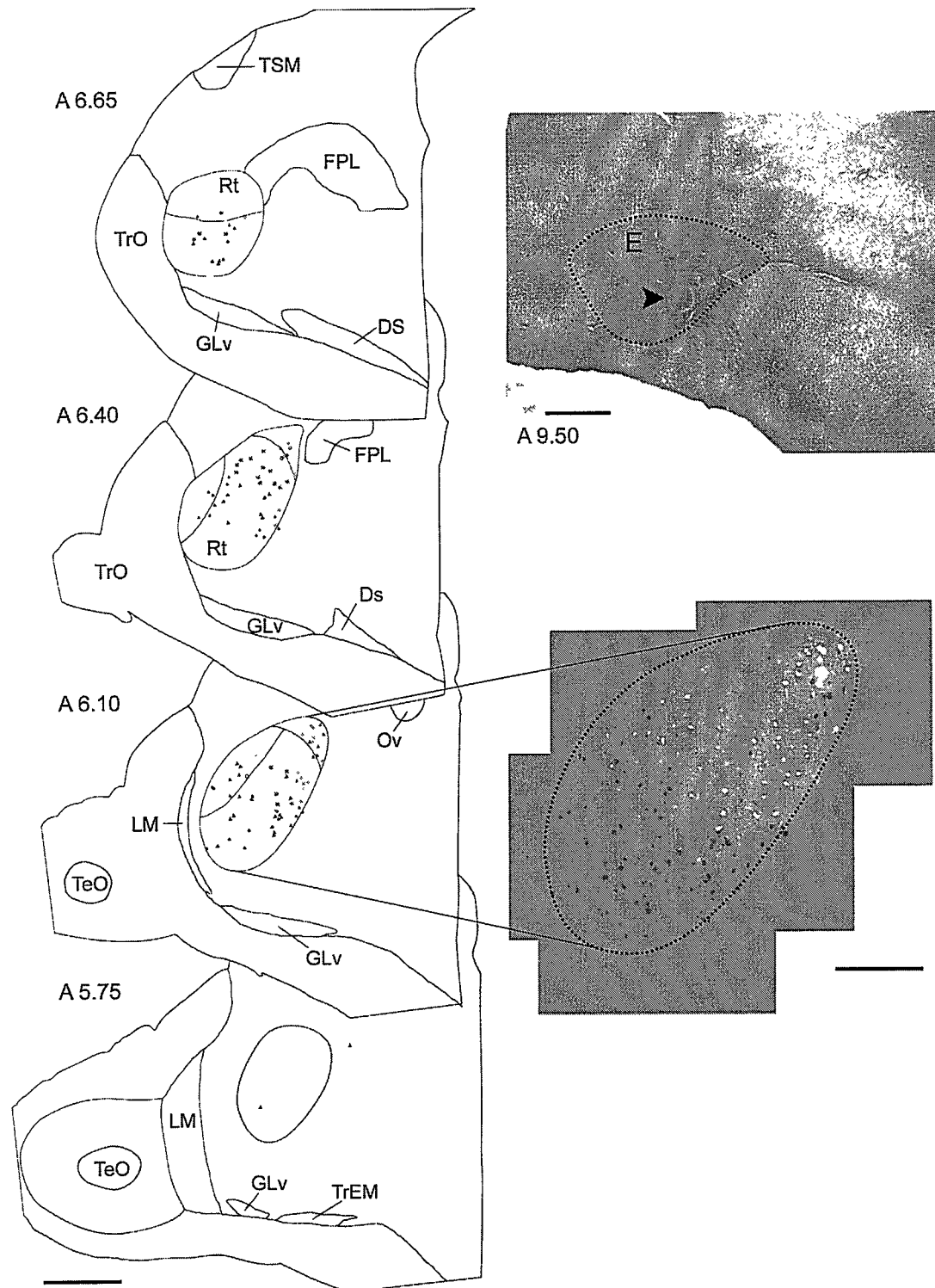


Figura 16. Inyección doble en la parte medial del E y células retrógradamente marcadas en las subdivisiones centralis y triangularis del núcleo Rt. Note que las células están localizadas principalmente en centralis. Note también que hay una relación topológica entre la posición de los cristales y los grupos celulares retrógradamente marcados.

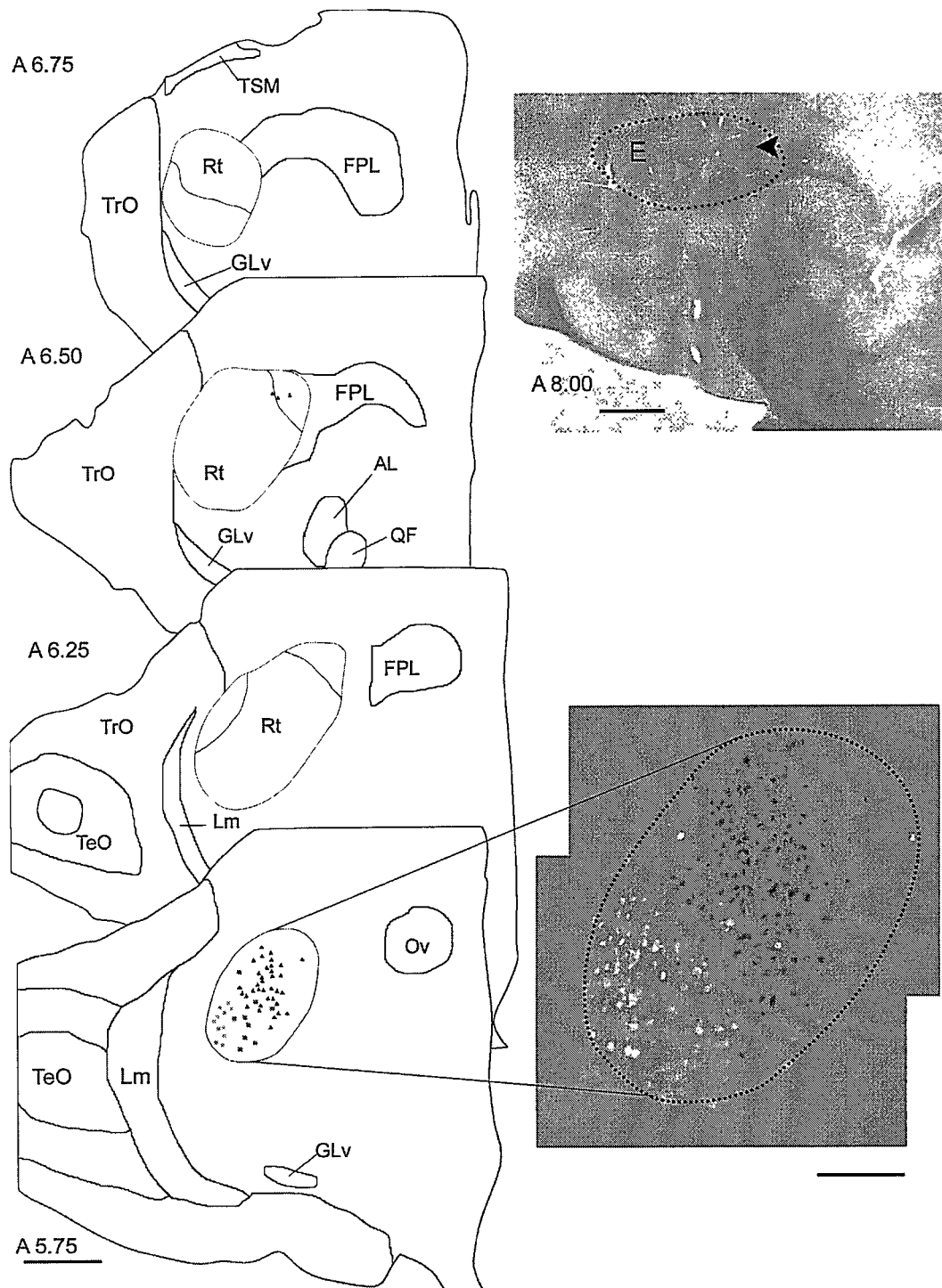


Figura 17. Inyección doble en la región posterior del entopallio y células retrógradamente marcadas en el rotundus. Note que las células están localizadas principalmente en la división Post del Rt. Note también que existe una relación topológica entre la posición de los grupos celulares en Rt y la localización de los cristales en el E.

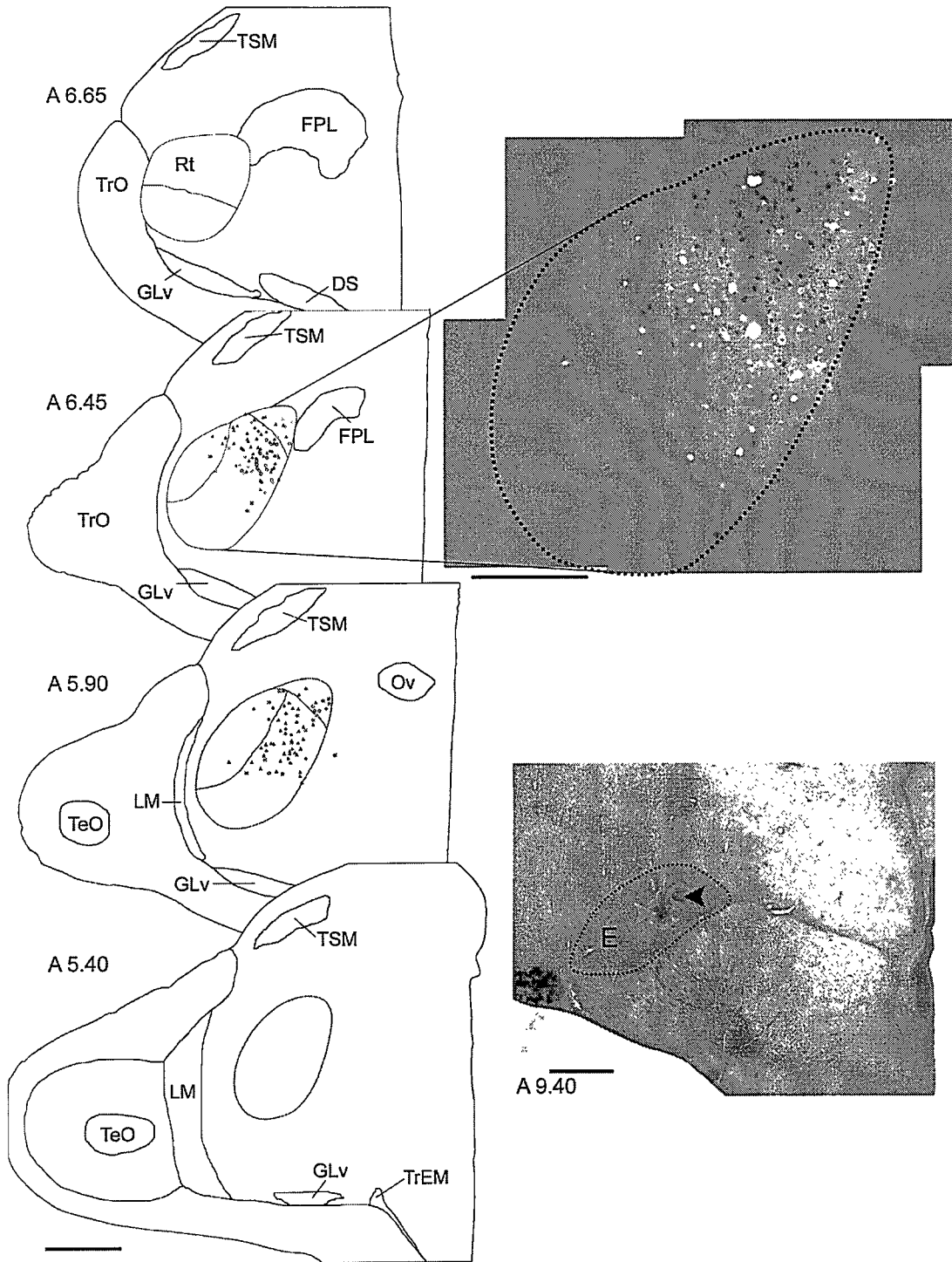


Figura 18. Inyección doble en la región medial del entopaloio y células retrógradamente marcadas en las divisiones centralis y triangularis del núcleo rotundus. Note que los cristales están muy cerca uno del otro; los halos de difusión se superponen. Los grupos celulares marcados retrógradamente en el núcleo Rt no tienen límites definidos y la región en la que se superponen es rica en células doblemente marcadas.

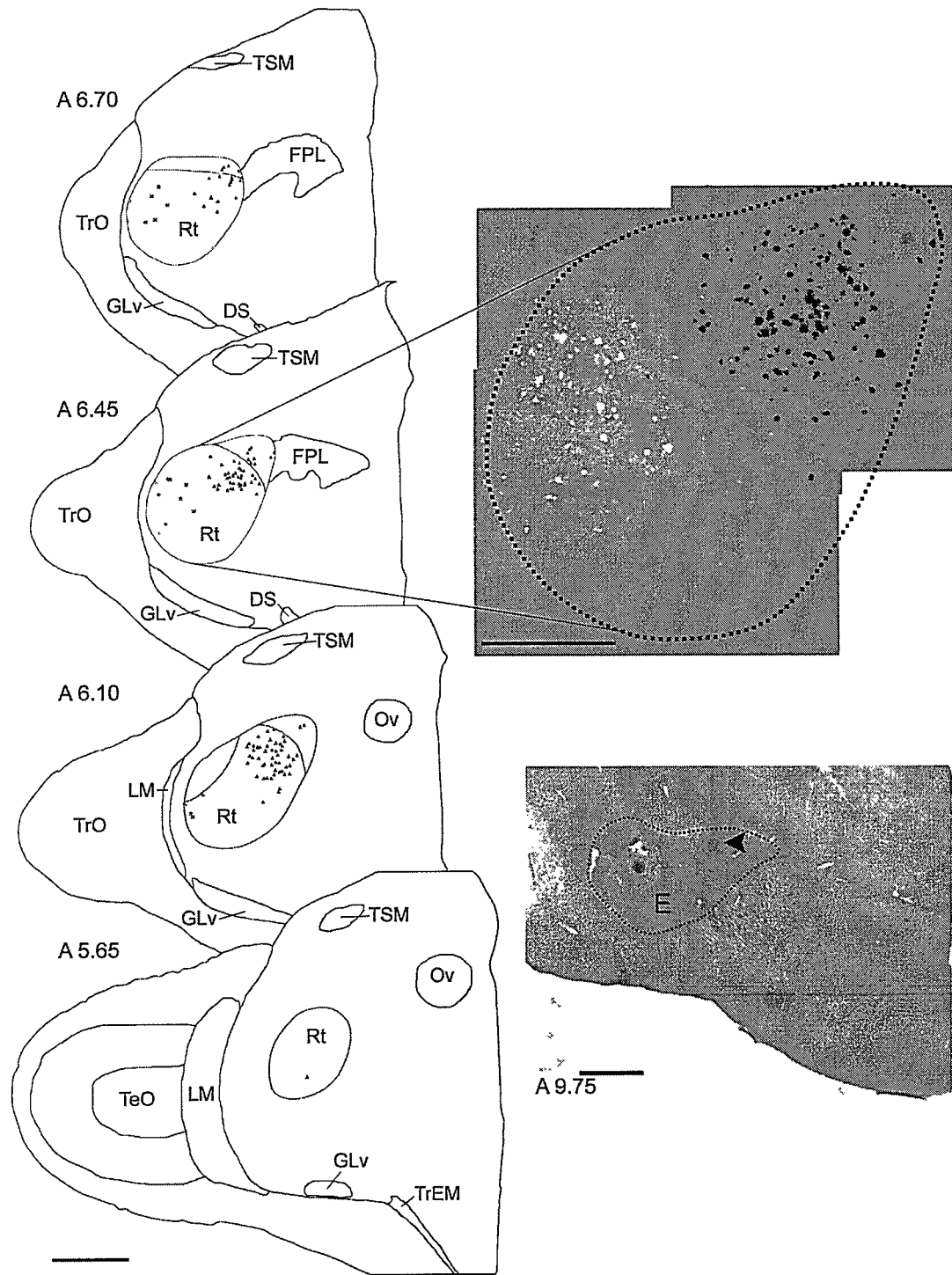


Figura 19. Inyección doble en la región medial del entopodio y células marcadas retrógradamente en las divisiones centralis y triangularis del rotundus. Note que los cristales están separados uno del otro por aproximadamente 500 μ m. Note también la ausencia de células doble marcadas y que los grupos celulares marcados retrógradamente están separados uno del otro. La distribución de estos grupos celulares se corresponde topológicamente con la posición de los cristales en el E.

5.1.4 Forma y arborización de los terminales rotundales en el E

Para determinar la forma y área de arborización de los terminales rotundales en el E realizamos inyecciones pequeñas de BDA en el Rt. Logramos obtener un axón bien aislado de una inyección en Da; este terminal se ubica en la región dorso anterior del E (figura 21, A). A mayor aumento se puede observar que la rama principal del axón avanza en forma rectilínea unos 100 μm desde ventral hacia dorsal en el núcleo sin dejar botones sinápticos hasta llegar a un punto de bifurcación donde surgen dos ramas principales, las que comienzan a generar finas arborizaciones que dejan botones sinápticos a su paso (figura 21, B). Luego procedimos a realizar una reconstrucción en cámara lucida de todas las secciones en las que se podían observar partes del terminal, en todos los planos focales. Esto nos permite apreciar que el radio de arborización en la parte dorsal y final del axón no supera los 300 μm .

En resumen, la proyección rotundo entopalial se organiza de forma zonal, donde cada subdivisión rotundal proyecta a una zona entopalial específica conservando un orden rostro caudal. La proyección dentro de cada una de esas zonas es topográfica directa, probablemente debido a que la arborización de los axones rotundales en el entopalio es restringida a no más de 300 μm de diámetro.

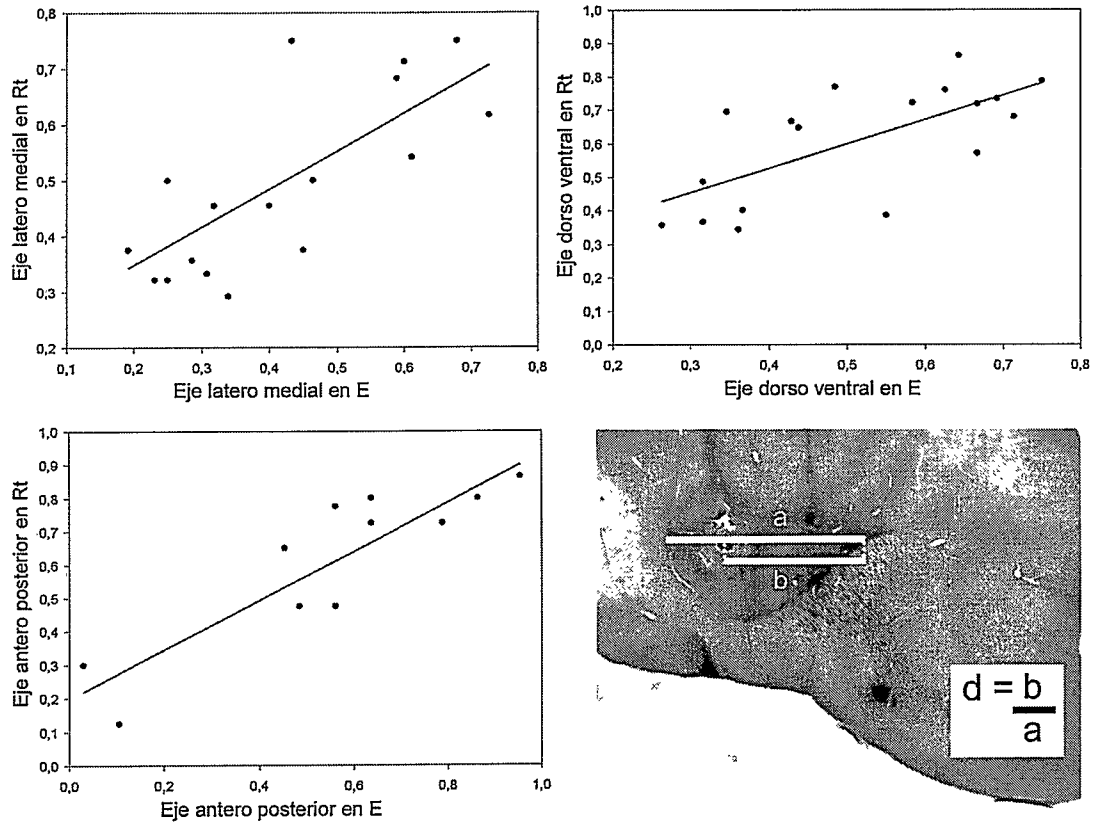


Figura 20. Representación gráfica de la posición de los cristales en el E y los grupos celulares retrógradamente marcados en el Rt que resume todos los casos de inyecciones cristalinas en el E. En la sección inferior derecha se muestra un ejemplo de la medición que se realizó. En este caso se midió la distancia del centro del cristal hasta el borde medial del E (b) y luego se midió la distancia entre los límites medial y lateral del E (a) el cociente de estos valores es la distancia normalizada (d). En los gráficos los puntos corresponden a las distancias normalizadas en todos los ejes, de los cristales en el entopalio y su correspondiente grupo celular asociado marcado retrógradamente en el rotundus. Los valores para el eje antero posterior corresponden a la coordenada estereotáctica más aproximada. Se muestran las regresiones lineales entre las coordenadas que dieron valores de coeficiente de correlación significativo ($r > 0.4$). Otras correlaciones entre ejes no fueron significativas ($r < 0.3$). Estos gráficos indican que al mover los cristales en un eje determinado del entopalio el grupo celular marcado retrógradamente en el rotundus se mueve en el mismo eje y en la misma dirección, en proporción al tamaño del núcleo.

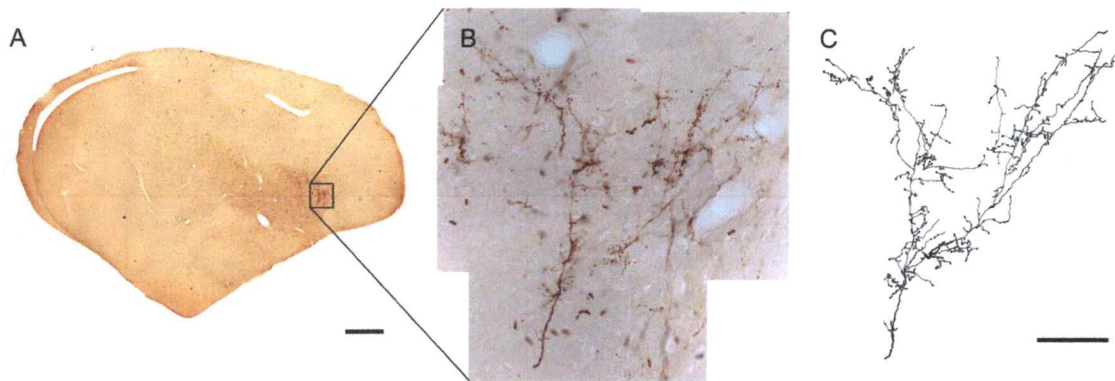


Figura 21. Reconstrucción de un axón en el E luego de una inyección localizada y pequeña en el núcleo rotundus. A: Fotografía a bajo aumento de una sección sagital a través del telencéfalo. B: Fotografía a mayor aumento de la sección del recuadro en A que muestra la morfología detallada del Terminal axónico. Note que la localización del terminal es en la parte dorsal del E y que el área de ramificación es aproximadamente 300 μm de ancho. C: Reconstrucción en cámara lúcida del terminal del Rt hecho de dos secciones contiguas de 60 μm en todos los planos focales. La barra de calibración corresponde a 1 mm en A, barra de calibración en C=100 μm .

5.2 Vía tectofugal en mamíferos

5.2.1 Proyección tecto-pulvinar

Una vez finalizado el estudio en palomas nos propusimos investigar la vía tectofugal en la ardilla de tierra californiana (*Spermophilus beecheyi*); un mamífero diurno, con una retina dominada por conos y que posee un colículo superior prominente.

El primer set de experimentos fue dirigido a averiguar si existe un núcleo en el tálamo dorsal, recipiente bilateralmente del colículo superior, tal como en la proyección tecto rotundal en el aves. Para este propósito realizamos inyecciones pequeñas de CTB en las capas superficiales del CS (figura 22, A) las que resultaron en un marcaje anterógrado ipsilateral en los núcleos geniculado lateral dorsal y el pulvinar rostral. La marca abarca

sólo una porción muy restringida y definida dentro de los núcleos y la intensidad de la marca denota una alta densidad de terminales en la región (figura 22, B). En los diferentes casos realizados cambia de posición dentro de los núcleos pulvinar rostral y Gld al cambiar la posición de la inyección en el CS evidenciando el arreglo topográfico en la proyección que ha sido descrito en otros estudios con anterioridad.

Al examinar un nivel más posterior se observa que el núcleo pulvinar caudal recibe una proyección bilateral de las capas superficiales del CS (figura 23, A). Esta proyección se caracteriza por una menor densidad de los terminales tectales comparado con los terminales observados en la figura 22 (B). Dicha densidad es mayor en el lado ipsilateral que en el lado contralateral (figura 23, B). Otra característica de esta proyección es que el área de terminación abarca prácticamente toda el área del núcleo (figura 23, B) en ambos lados indistintamente de la localización del sitio de inyección en la superficie del SC.

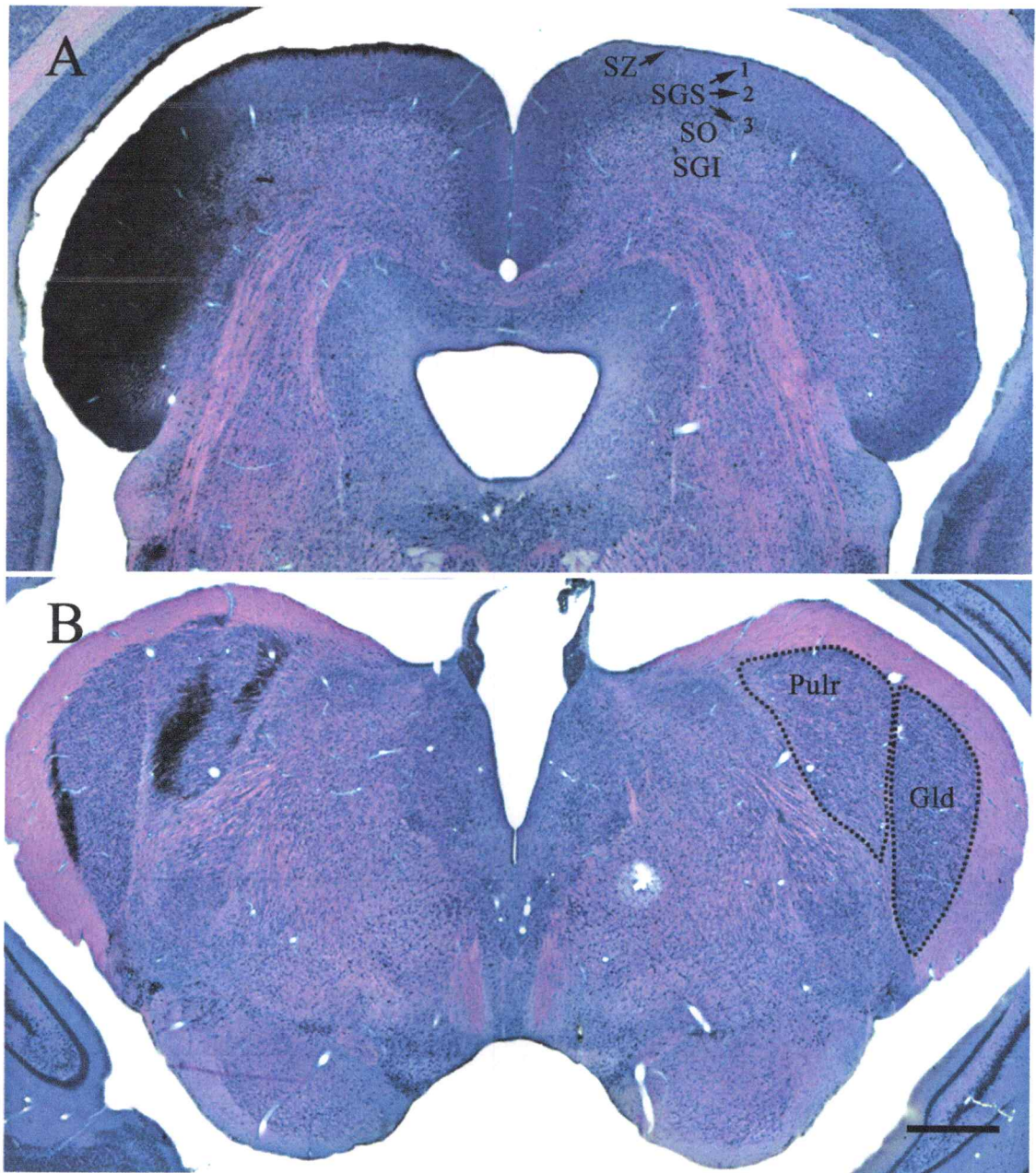


Figura 22. Inyección de CTb en capas superficiales del colículo superior y marcación anterógrada resultante en el núcleo geniculado dorsal y el pulvinar rostral. A: Fotografía de una sección sometida a una tinción Giemsa que muestra el sitio de inyección en las capas superficiales del CS. Note que la extensión de la inyección esta restringida a una pequeña área lateral. B: Terminales anterógradamente marcados en el Gld y en el Pulr ipsilaterales como resultado de la inyección mostrada en A. Note que los terminales están localizados en una región restringida de los núcleos; note además la ausencia de terminales en el lado contralateral. La barra de calibración corresponde a 1 mm.

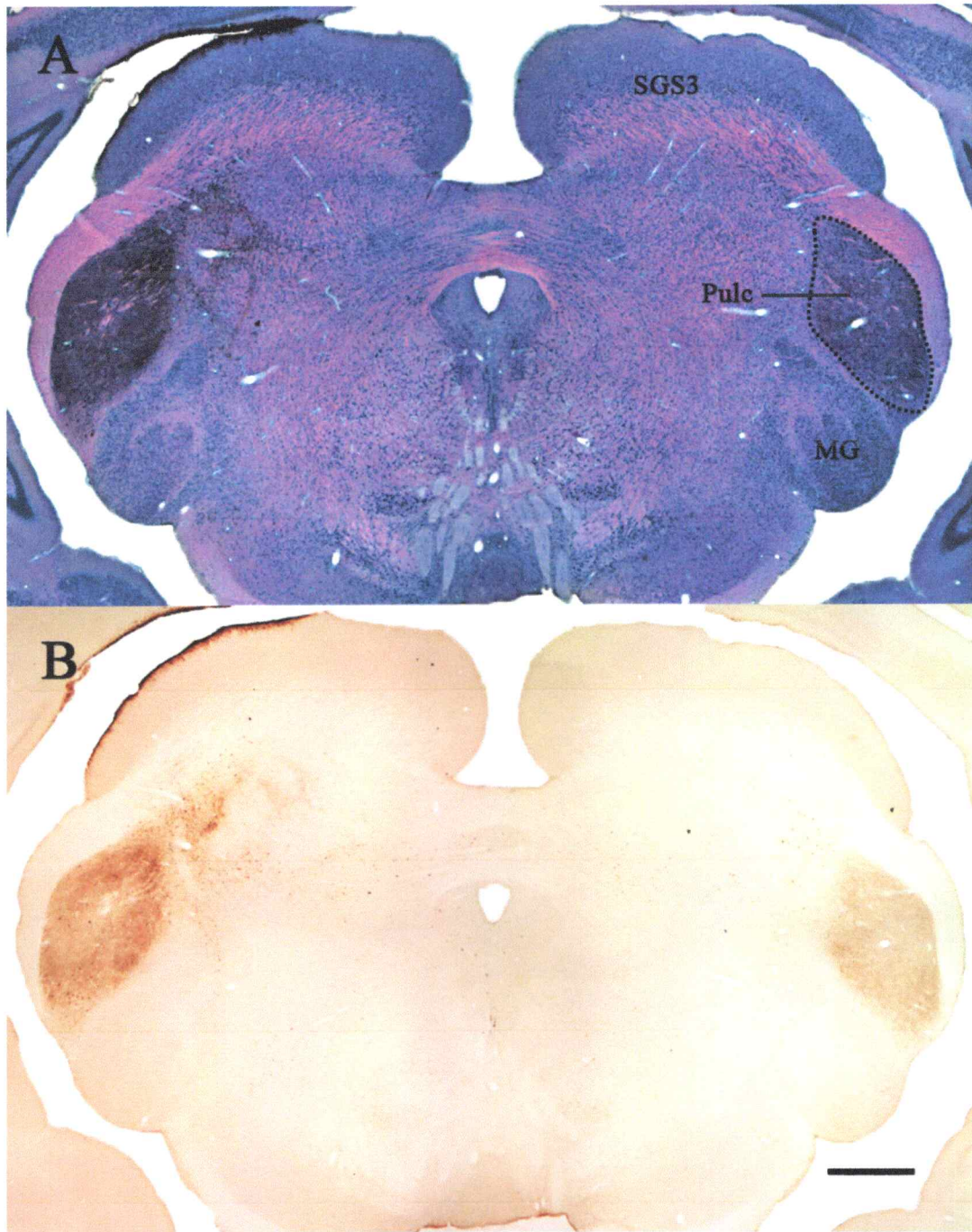


Figura 23. Marca anterógrada bilateral en el núcleo pulvinar caudal proveniente del colículo superior. A: Sección sometida a tinción Giemsa que muestra el marcaje anterógrado en el núcleo Pulc que resulta de la inyección mostrada en la figura anterior. Note que los terminales se ubican en toda la extensión del núcleo bilateralmente. B: Fotografía de una sección adyacente que no fue contrateñida que muestra claramente los terminales en el núcleo Pulc. Note que la densidad de terminales es relativamente homogénea dentro del núcleo en ambos lados; note también que la densidad de terminales es mayor en el lado ipsilateral que en el lado contralateral. Barra de calibración corresponde a 1mm.

Con la intención de distinguir las poblaciones celulares en el CS proyectantes al complejo pulvinar realizamos inyecciones de CTb en las capas profundas del CS (figura 24, A). Aunque no logramos inyecciones completamente limpias sin afectar las capas superficiales, no se observa ningún signo de transporte anterógrado ni retrógrado en el núcleo pulvinar caudal (figura 24, A y B). Con la excepción de terminales en el núcleo del tracto óptico, no hay ninguna evidencia de marca en otras estructuras en este nivel. Sin embargo en un nivel más rostral se pueden observar terminales en el núcleo Gld y pulvinar rostral ipsilaterales (figura 25). La densidad de los terminales no es alta pero la marca es evidente. Los terminales no se distribuyen sobre toda la superficie del núcleo, sino que localizados y restringidos a una pequeña porción del núcleo sugiriendo un arreglo topográfico en la proyección.

Luego quisimos averiguar la morfología y distribución de las células en el CS que originan la proyección bilateral al Pulc; para este propósito realizamos inyecciones de CTb en este núcleo (figura 26). De los cinco casos sólo una de las inyecciones de CTb fue completamente limpia, sin difusión del trazador hacia otras estructuras; el depósito se concentra principalmente en la región lateral del núcleo difundiendo hacia otras regiones dentro del mismo (figura 26, A). Esta inyección produjo un transporte retrógrado en el SC; específicamente en una de las capas superficiales retinorecipientes: el *stratum griseum superficiale 3* (SGS3), aunque algunos cuerpos celulares se pueden observar también en la zona superior del *stratum opticum* (SO) (figura 27, A y B). Los somas se ubican bilateralmente abarcando toda la superficie colicular, la densidad de los

cuerpos celulares en la región lateral de SC es siempre menor comparado con las regiones dorsales y mediales. Al comparar los hemisferios en cambio, es evidente una mayor densidad de células marcadas en el lado ipsilateral (figura 27). En cuanto a la morfología celular se observa que la mayoría de los cuerpos presentan forma triangular con varias dendritas primarias, estas se dirigen oblicuamente hacia la superficie tectal (figura 30). Además en ambos hemisferios, se aprecia una banda de marcaje en la superficie tectal. Esta banda podría corresponder con las terminaciones dendríticas de las células del SGS3 (figura 27, recuadro; figura 29, B). Interesantemente es posible apreciar transporte anterógrado en la región lateral del núcleo pulvinar caudal contralateral, representando una imagen especular del sitio de inyección (figura 26, B). Este transporte es muy similar al que ocurre en el núcleo rotundus contralateral, luego de una inyección de CTB en el núcleo rotundus ipsilateral en aves (figura 9).

Dado que las inyecciones en las capas profundas de SC (figura 24, A) resultan en un marcaje anterógrado específico en el Pulv y Gld (figura 25), y teniendo en cuenta que las células de la capa SGS3 proyectan al núcleo pulvinar caudal, quisimos averiguar donde se ubican los cuerpos celulares que proyectan al núcleo pulvinar rostral. Para esto realizamos inyecciones de CTB en el Pulv (figura 28) que afectaron la mayor parte del núcleo, contaminando mínimamente al núcleo pulvinar caudal por difusión del trazador.

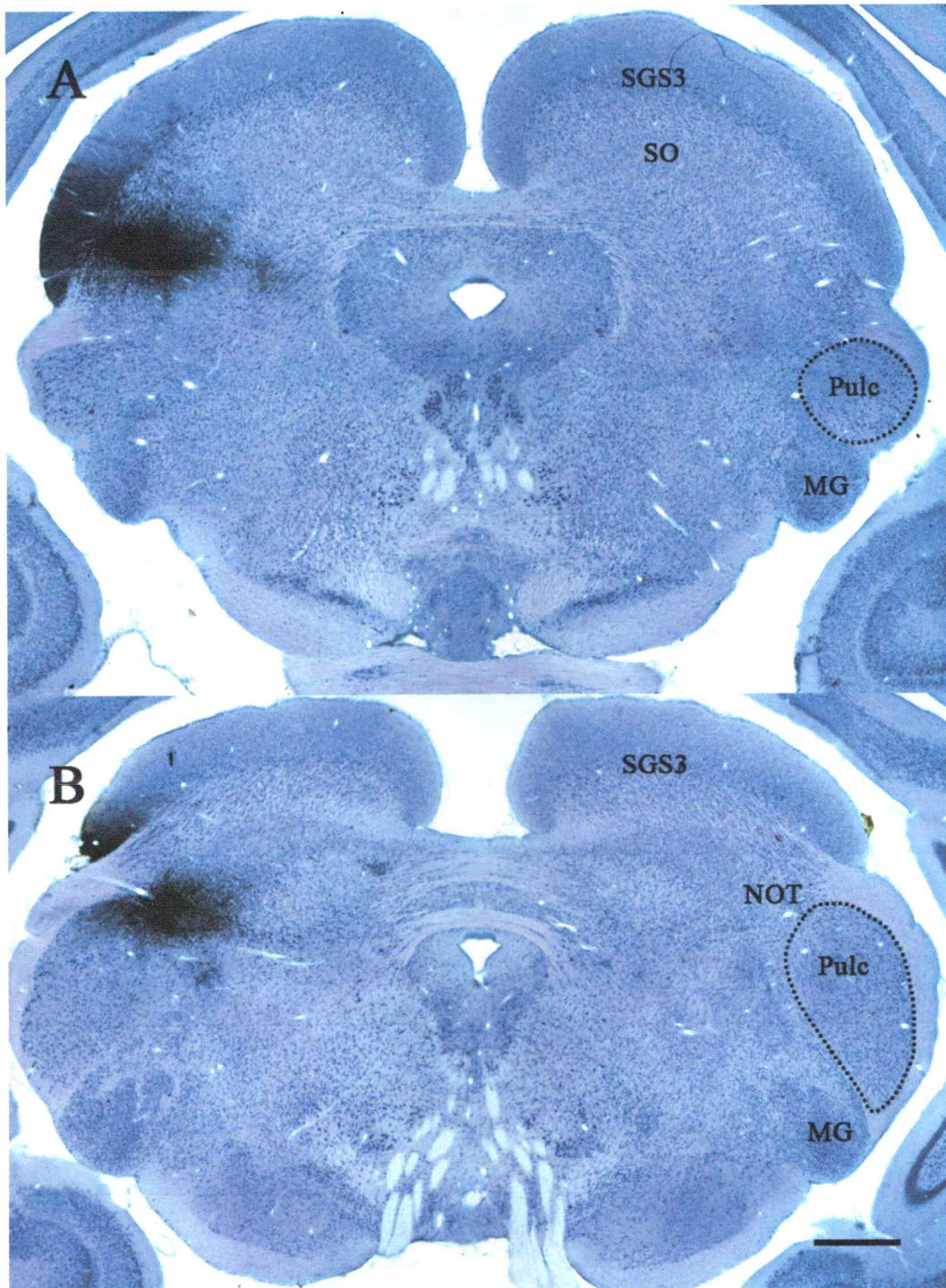


Figura 24. Inyección de CTb en las capas profundas del colículo superior y marcaje anterógrado resultante en NOT. A: Fotografía de una sección sometida a tinción Giemsa que muestra una inyección de CTb en la región lateral del CS. Note que la inyección sólo afecta a las capas profundas del SC; note también que a este nivel el núcleo pulvinar caudal está totalmente libre de terminales. B: Fotografía de una sección más rostral que en A que muestra el transporte anterógrado del trazador al núcleo NOT ipsilateral. Note la completa ausencia de terminales en el núcleo Pulc. Barra de calibración corresponde a 1mm.

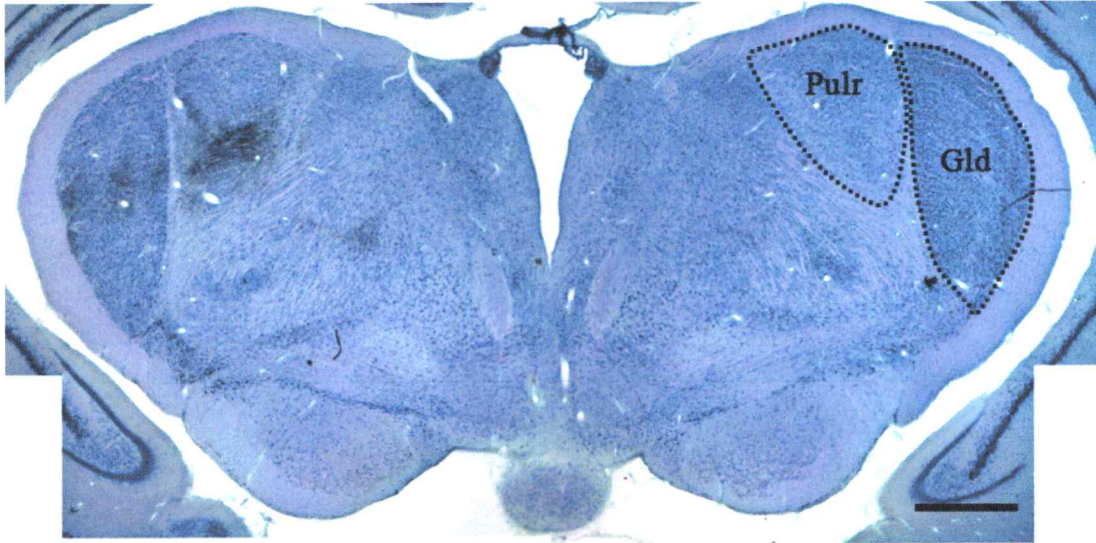


Figura 25. Marcaje anterógrado en los núcleos geniculado dorsal y pulvinar rostral como resultado de una inyección de CTb en el SC. Fotografía de una sección sometida a tinción Giemsa a nivel del tálamo donde se muestra el transporte anterógrado resultante de la inyección en el SC de la figura anterior. Note que los terminales se ubican en los núcleos Gld y Pulr en regiones pequeñas y bien definidas dentro de los núcleos. Barra de calibración corresponde a 1mm.

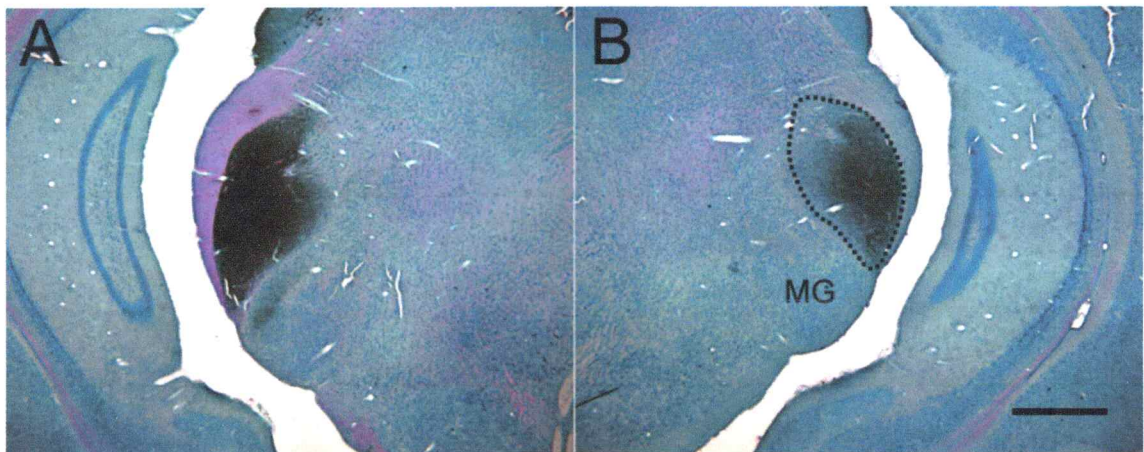


Figura 26. Inyección de CTb en el núcleo pulvinar caudal y transporte resultante. A: Fotografía de una sección sometida a tinción Giemsa con una inyección de CTb en el Pulc. Note que no hay difusión del trazador a ninguna estructura adyacente. B: Marcaje de terminales en el Pulc contralateral. Note que los terminales están localizados en la parte más lateral del núcleo contralateral que corresponde con el sitio de mayor densidad de depósito del trazador en el lado ipsilateral. La barra de calibración corresponde a 1mm.

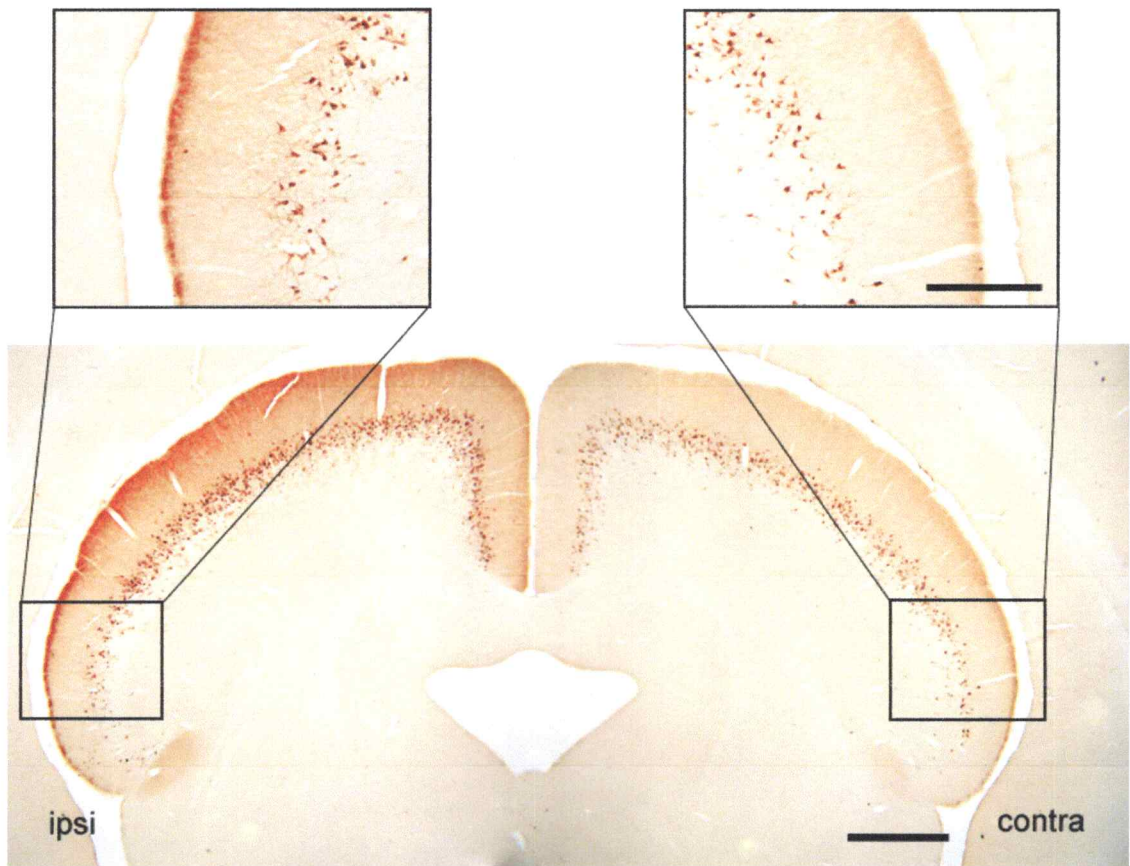


Figura 27. Células retrógradamente marcadas en el colículo superior luego de una inyección en el núcleo pulvinar caudal. Fotografía de una sección a nivel del CS que muestra los cuerpos celulares marcados retrógradamente y bilateralmente luego la inyección de CTb en el Pulc que se muestra en la figura anterior. En el recuadro izquierdo se muestra una fotografía a mayor aumento de la sección señalada del lado ipsilateral. Note que la densidad de las células marcadas es menor en la región lateral ventral del SC. Note también la banda de marcaje en la superficie tectal. En el recuadro de la derecha se muestra una fotografía a mayor aumento de la sección indicada en el lado contralateral. Note que la densidad de los cuerpos celulares es menor en comparación con el lado ipsilateral. Note también la presencia de la banda de marcaje en la superficie tectal. Barra de calibración en recuadro corresponde a 500 μm , en la figura corresponde a 1mm.

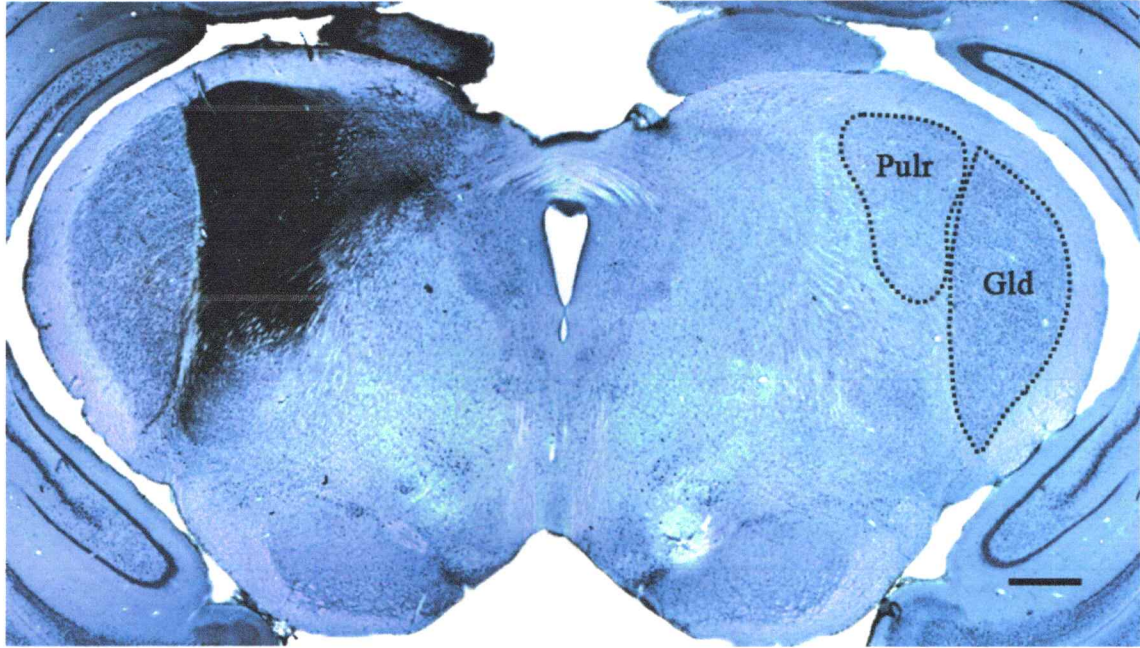


Figura 28. Inyección de CTb en núcleo pulvinar rostral. Fotografía de una sección sometida a tinción Giemsa en la que se observa el depósito principal de CTb en el núcleo Pulr. Note que la inyección no involucra al núcleo Gld pero hay algo de difusión hacia la región medial del tálamo. Barra de calibración corresponde a 1 mm.

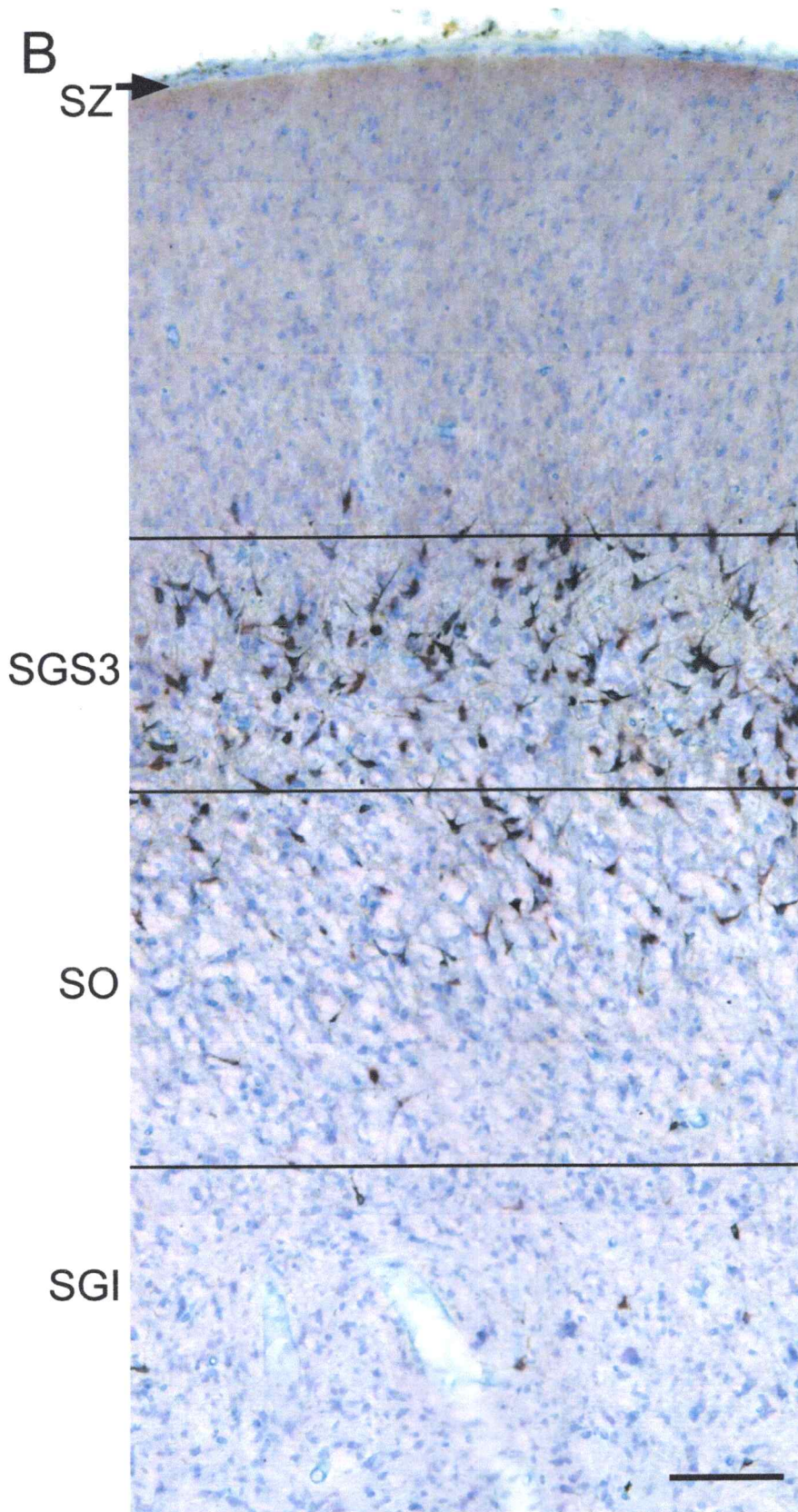
Estas inyecciones resultaron en un marcaje retrógrado de cuerpos celulares sólo en el SC ipsilateral (figura 31, A). Estas células difieren de las proyectantes al Pulr principalmente en su localización: mientras las células proyectantes al pulvinar caudal se ubican exclusivamente en la capa SGS3, las que envían sus axones al Pulr se ubican en una capa más profunda, específicamente en el SO, aunque algunas de ellas pueden observarse también en el SGI (figura 31, B). Una marca débil, posiblemente anterógrada y de apariencia granular es observable en la capa SGS3, la que es probable que corresponda a las terminaciones dendríticas de los cuerpos marcados en la capa SO (figura 31, B).

En resumen estos experimentos muestran que los núcleos pulvinar caudal y pulvinar

rostral poseen aferencias desde el CS, pero desde poblaciones celulares completamente segregadas; además la invasión al Pulv es sólo ipsilateral, mientras que la proyección al núcleo Pulc es bilateral. El arreglo topográfico también parece ser diferente, desde que las inyecciones en las capas superficiales del SC producen un marcaje anterógrado en toda la superficie del Pulc, en cambio las inyecciones en las capas profundas del SC generan una marca anterógrada específica y restringida a una porción pequeña del Pulv.



Figura 29. Localización laminar de las células marcadas en el colículo superior después de una inyección de CTb en el pulvinar caudal. A: Sección transversal a nivel del CS sometida a una contra tinción Giemsa donde se observa la citoarquitectura de las capas superficiales del SC. B: (pagina siguiente) Fotografía a mayor aumento correspondiente al recuadro en A. Note que los cuerpos celulares marcados se ubican casi exclusivamente en la capa SGS3, aunque se pueden observar algunos en la parte superior del SO. Note también la marca en el SGS1. Barras de calibración en A corresponde a 1mm, en B=100µm.



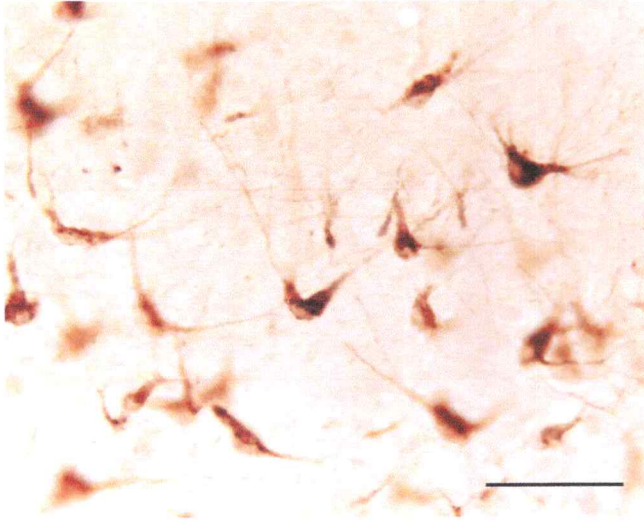


Figura 30. Células retrógradamente marcadas en la subcapa 3 del SGS del colículo superior, resultantes de una inyección de CTb en el pulvinar caudal ipsilateral. Note que varios somas poseen dendritas primarias que se dirigen oblicuamente hacia la superficie tectal. Barra de calibración corresponde a 50 μm .

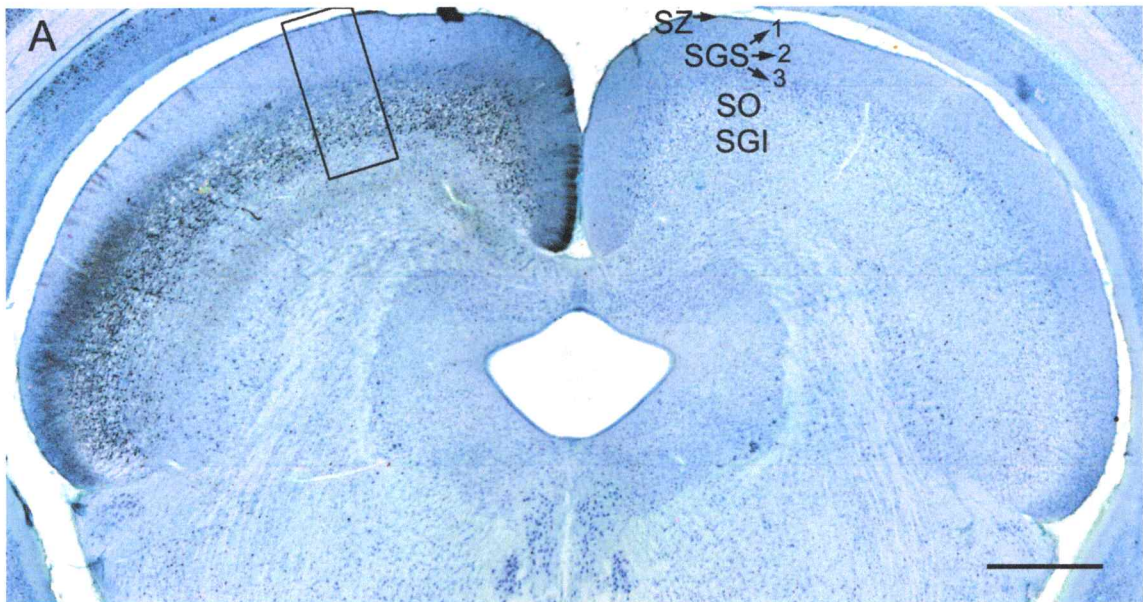
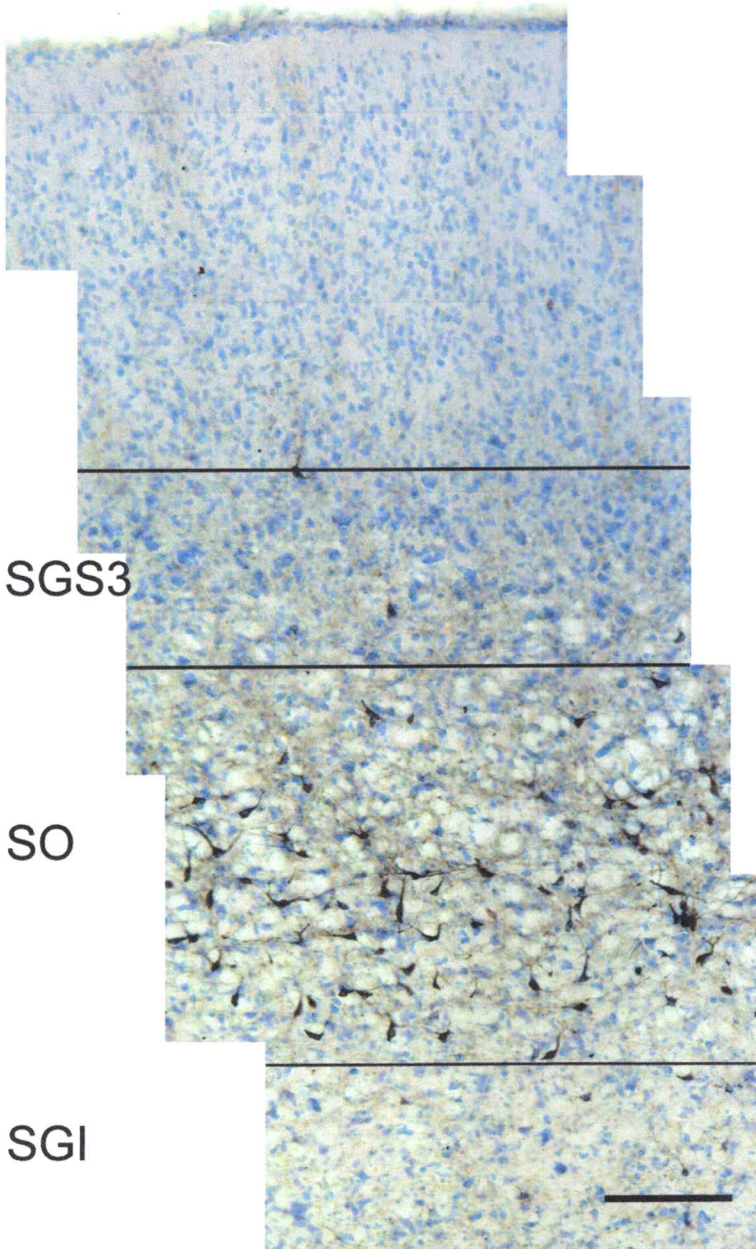


Figura 31. Células retrógradamente marcadas en el colículo superior como resultado de una inyección de CTb en el pulvinar rostral ipsilateral. A: Sección transversal del CS donde se observan cuerpos celulares retrógradamente marcados luego de una inyección de CTb en el núcleo Pulr. Note que los cuerpos celulares se encuentran exclusivamente en el SC ipsilateral. Las capas superficiales del SC se indican en el SC contralateral. B (pagina siguiente): Reconstrucción de fotografías de mayor aumento correspondiente a la región indicada en el recuadro de la figura A. Note que las células marcadas se ubican en la zona más ventral de SO y es posible observar una marca débil de apariencia granular en la capa SGS3. Barras de calibración en A corresponde a 1mm, y en B= 100 μm .

B



5.2.2 Proyección del Pulvinar caudal a la corteza temporal

Las inyecciones de CTB (figura 26) y BDA (figura 33) en el núcleo Pulc resultaron en un marcaje anterógrado y retrógrado en una región específica de la corteza temporal ipsilateral conocida como TP. Para el caso de inyecciones de CTb (figura 26, A) en el Pulc, se observan cuerpos de células piramidales marcados retrógradamente en la capa 5 y 6 de la corteza TP; la gran mayoría de los cuerpos sin embargo se ubican en la capa 6 y sólo algunas células de mayor tamaño se ubican en la capa 5 (figura 32, recuadro). Como es usual para las células piramidales sus dendritas se proyectan hacia la superficie cortical; en la capa 4 se observa una marca anterógrada homotópica con respecto a los cuerpos celulares observados en las capas 5 y 6 (figura 32). Estos marcados podrían corresponder a las dendritas de las células piramidales ubicadas en las capas 5 y 6, o terminales anterógradamente marcados provenientes del núcleo pulvinar caudal. Para clarificar el origen de esta marca realizamos una inyección de BDA en el núcleo Pulc (figura 33). Esta inyección resultó en un plexo de procesos marcados anterógradamente en la misma región donde se observan los terminales con la inyección de CTB, esta vez en ausencia de células piramidales marcadas (figura 33), evidenciando que esta marca proviene del núcleo Pulc. Además se pueden observar fibras más gruesas pero mucho menos densas ubicadas en la capa 6 (figura 33, recuadro), las cuales son invisibles en las inyecciones de CTb debido al solapamiento con los cuerpos celulares y sus dendritas.

Las inyecciones de CTb y BDA en el Pulc (figuras 28 y 34) generaron patrones de marcaje en la corteza diferentes de aquellos generados como producto de las inyecciones

en el Pulc. En el caso de las inyecciones de CTb (figura 28) la marca con mayor fuerza se observa en la corteza temporal ipsilateral dorsal a la corteza temporal posterior, específicamente en el área 19 y Tm (figura 35). Sin embargo, también fue posible observar células y terminales marcados en Tp, debido probablemente a una difusión menor del trazador al núcleo Pulc. La distribución laminar de la marca es muy similar a la observada en la corteza temporal posterior; la mayor cantidad de células piramidales retrógradamente marcadas se encuentra en la capa 6 pero también se observa otra población de células de mayor tamaño y con menor densidad se ubica en la capa 5. Así como en el caso anterior, estas células piramidales extienden sus dendritas hacia la superficie cortical. En la capa 4 se observa una marca anterógrada homotópica con respecto a los cuerpos celulares ubicados en las capas 5 y 6 (figura 35). Estos procesos marcados podrían corresponder a las dendritas de las células piramidales ubicadas en las capas 5 y 6, o a terminales provenientes del núcleo pulvinar rostral. Para clarificar el origen de esta marca realizamos una inyección de BDA en el núcleo Pulr (figura 34). Esta inyección resultó en un plexo de procesos marcados anterógradamente en la misma región donde se observan los terminales con la inyección de CTb, pero esta vez en ausencia de células piramidales marcadas (figura 36), evidenciando que la marca anterógrada observada en la capa 4 luego de la inyección con CTb son efectivamente terminales provenientes del Pulr. Esta inyección de BDA fue mucho más localizada comparada con la de CTb, y no se observa ningún signo de difusión a las estructuras circundantes (figura 33); esto se refleja también en la marca anterógrada que se extiende

exclusivamente a las áreas 19 y Tm (figura 36). La marca se compone solamente de arborizaciones axonales muy densas en la capa 4. No es posible observar ningún rastro de terminales en la capa 5, a diferencia del patrón de terminación del núcleo Pulc en Tp.



Figura 32. Terminales y cuerpos celulares en la corteza Tp luego de una inyección de CTb en el pulvinar caudal. Fotografía de la región de la corteza TP que muestra terminales marcados anterógradamente y cuerpos celulares marcados retrógradamente como resultado de la inyección en Pulc de la figura 24, A. Note que los cuerpos celulares y terminales se ubican homotópicamente en TP. En el recuadro se muestra una fotografía a mayor aumento de la sección indicada. Note que los terminales se ubican principalmente en la capa 4 (L4) sin embargo las células están mayoritariamente en la capa 6 (L6) se aprecian también algunas células en la capa 5(L5). Note también que las dendritas de las células piramidales se dirigen radialmente hacia la superficie de la corteza. Barra de calibración en el recuadro corresponde a 500 μm . En la figura corresponde a 1mm.

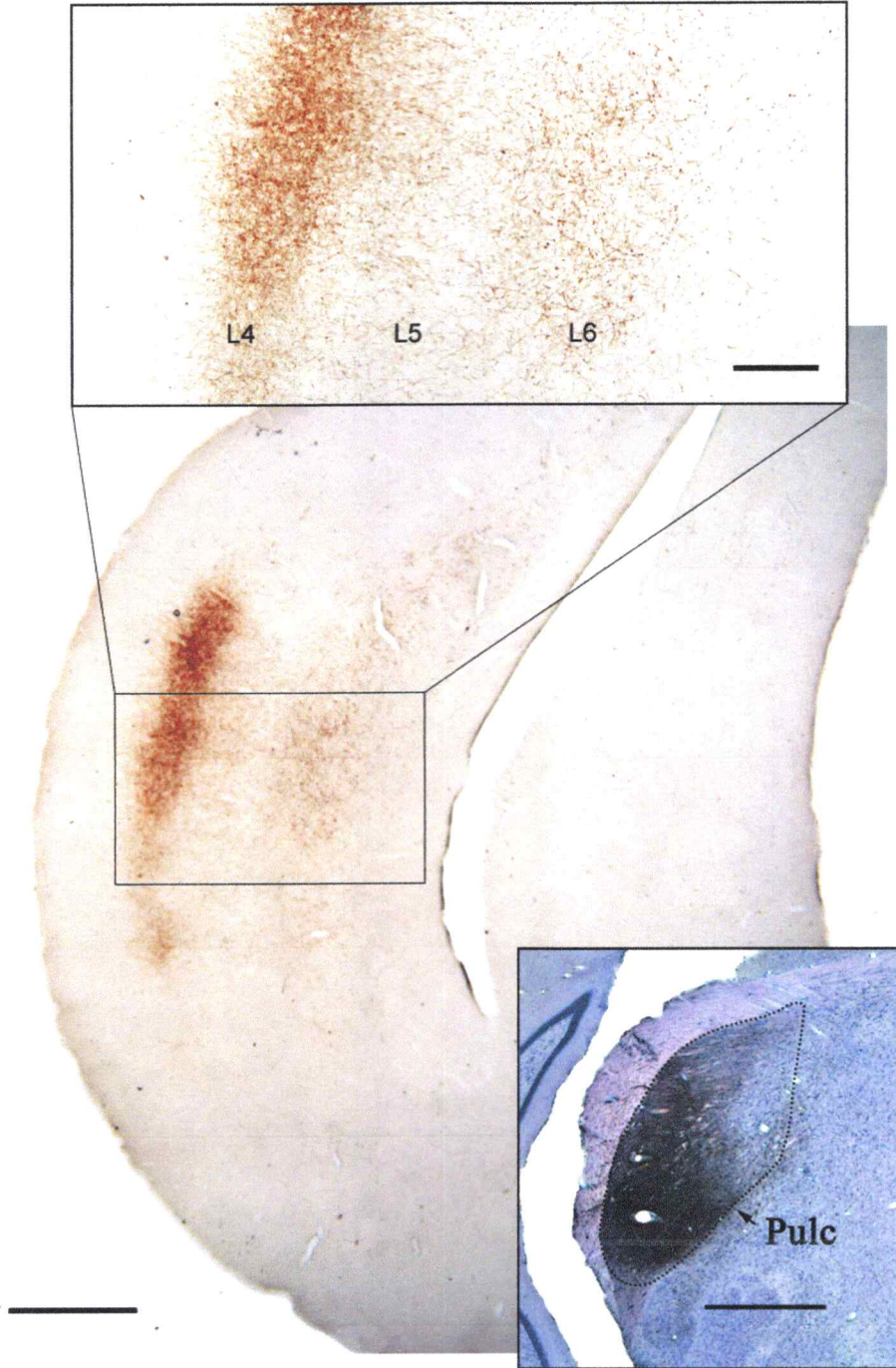
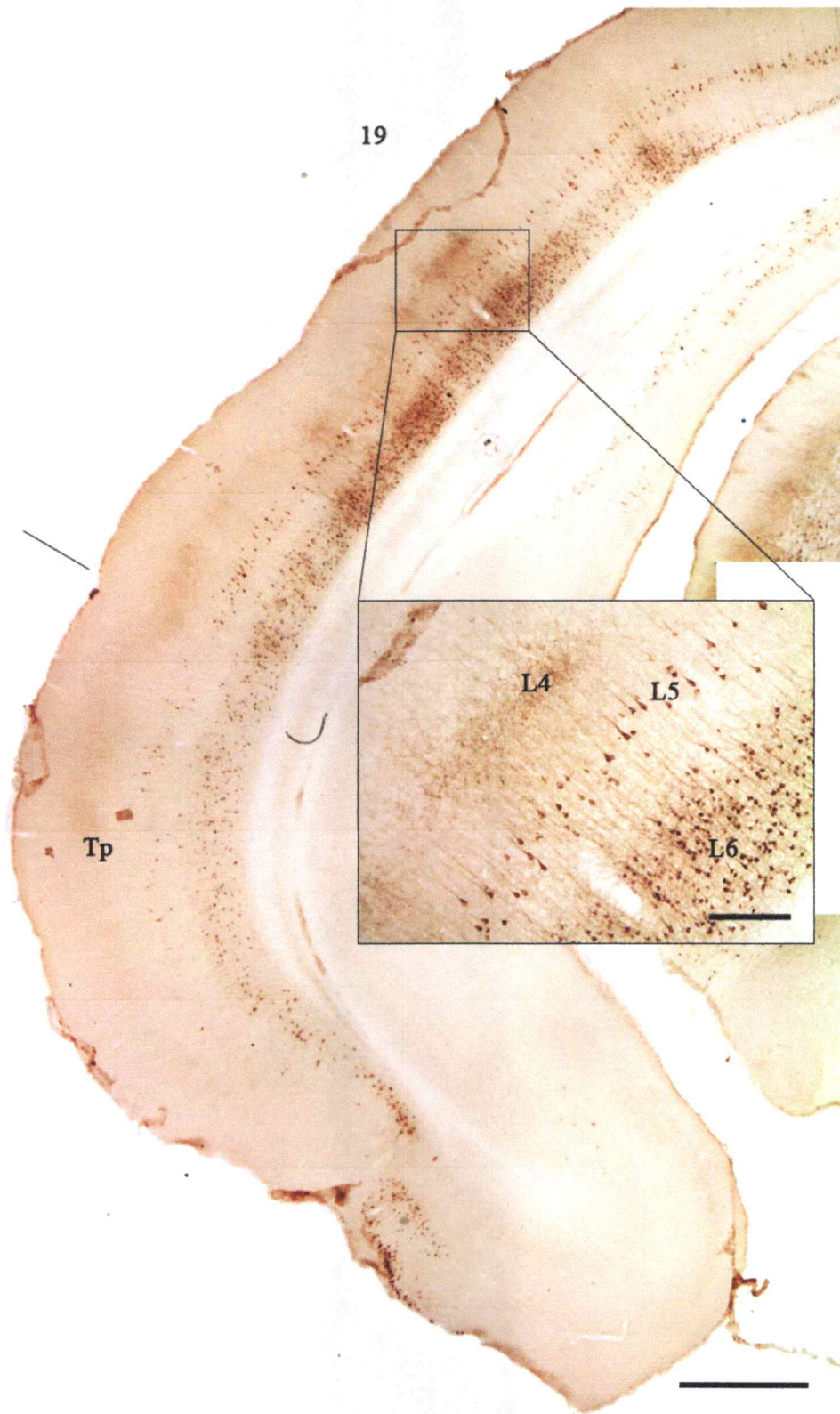


Figura 33. Terminales en TP luego de una inyección de BDA en el Pulc. La fotografía muestra los terminales marcados anterógradamente luego de una inyección de BDA en el Pulc mostrada en el recuadro de la esquina inferior derecha. En el recuadro superior se muestra una fotografía a mayor aumento de la sección señalada. Note que los terminales con mayor densidad se ubican en la capa 4 (L4) sin embargo en la capa 6 (L6) se observan terminales con menor densidad y de morfología diferente. En el recuadro superior la barra de calibración corresponde a 500µm. En la figura y recuadro inferior la barra de calibración corresponde a 1mm.



Figura 34. Inyección de BDA en el núcleo pulvinar rostral. Fotografía de una sección sometida a tinción Giemsa que muestra el depósito principal de BDA en núcleo Pulr. Note que la inyección no afecta a ninguna de las estructuras aledañas. La barra de calibración corresponde a 1mm.

Figura 35. (página siguiente) Células y fibras en el área 19 luego de una inyección de CTb en el núcleo pulvinar rostral. Fotografía que muestra una sección de la corteza donde se pueden observar células retrógradamente marcadas y terminales anterógradamente marcados luego de una inyección de CTb en el Pulr que se muestra en la figura 26. Note que los cuerpos celulares se ubican a lo largo de toda la superficie cortical visible, sin embargo la región donde la densidad celular es mayor corresponde con la presencia de terminales homotópicamente distribuidos en la capa 4. En el recuadro se muestra una fotografía a mayor aumento de la zona señalada. Note que la mayoría de las células se ubican en la capa 6 y que se marcan otros cuerpos menos abundantes pero de mayor tamaño en la capa 5, es posible observar también transporte anterógrado en la capa 4 el cual sólo se puede observar en el área 19. El límite entre el área 19 y Tp se demarca con una línea negra radial a la superficie de la corteza. La barra de calibración del recuadro corresponde a 500 μ m. En la figura principal a 1mm



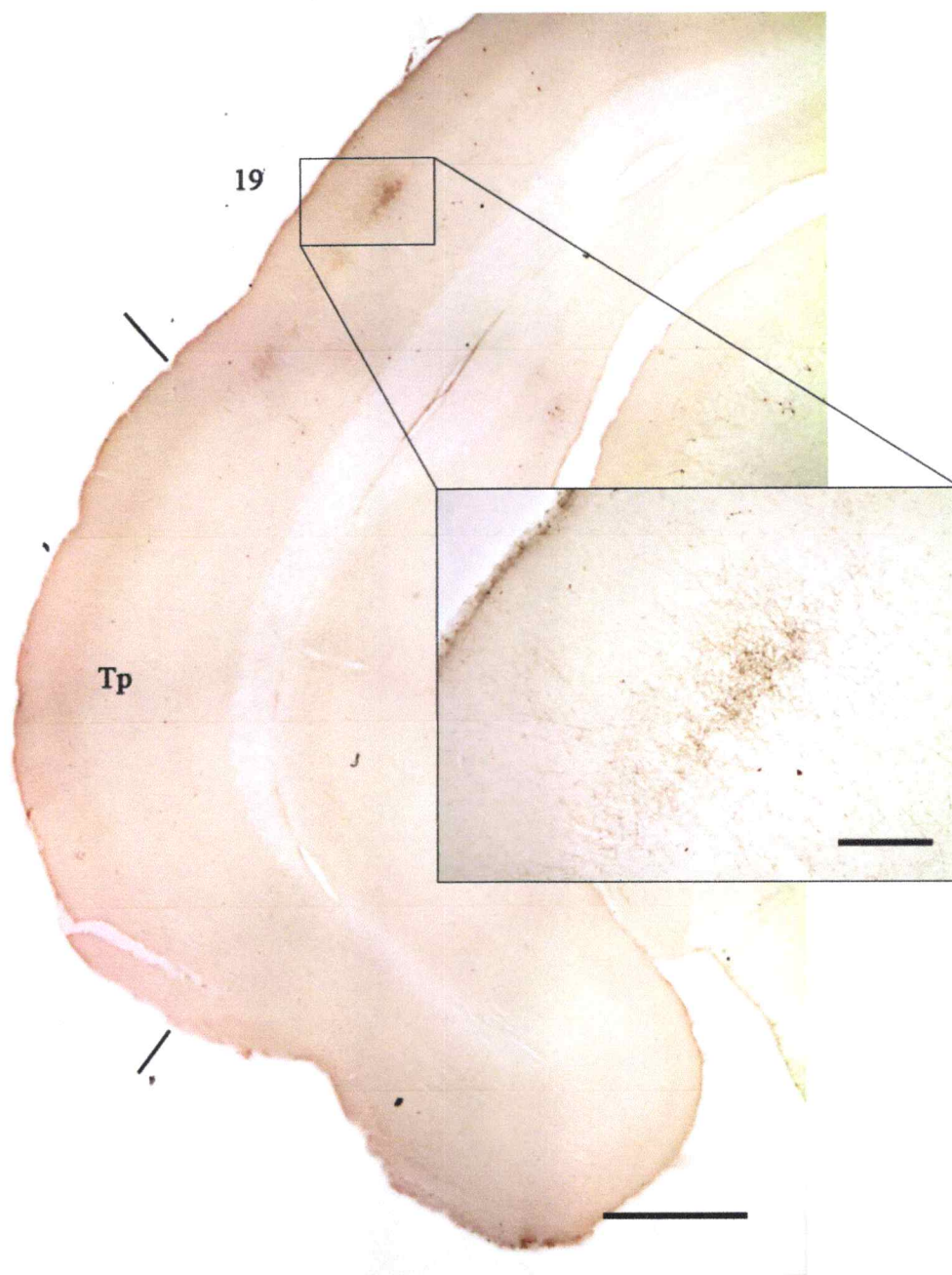


Figura 36. Terminales anterógradamente marcados en el área 19 luego de una inyección de BDA en el núcleo pulvinar rostral ipsilateral. Fotografía de la corteza lateral dorsal; se indican los límites del área Tp con líneas negras radiales a la superficie cortical. En el área 19 se puede observar un transporte anterógrado que es resultado de la inyección mostrada en la figura 32. En el recuadro se muestra una fotografía de mayor aumento de la zona indicada. Se puede apreciar que los terminales se encuentran principalmente en la capa 4 pero que algunos salen hacia las capas superiores en dirección de la superficie cortical. La barra de calibración en la figura principal corresponde a 1mm. la del recuadro a 500 μ m.

5.2.3 Inyecciones corticales

Los resultados de inyecciones de CTb y BDA en el Pulc y Pulr nos sugieren que estos núcleos están conectados recíprocamente con las áreas Tp y 19-Tm respectivamente. Con la intención de demostrar esta conectividad realizamos 6 casos de inyecciones de CTb en las áreas corticales Tp y 19-Tm.

5.2.4 Inyecciones en las áreas 19 y Tm

En la figura 37 se puede observar una sección transversal representativa del sitio de inyección que afecta el área 19 principalmente, y también parte de Tm por difusión. El área de mayor densidad del trazador dentro del sitio de inyección es identificable gracias a la proyección callosal a la corteza contralateral. Como se observa en la figura 37, la copia callosal se encuentra en el área 19 de la corteza contralateral. Todas las inyecciones en el área 19-Tm generaron un marcaje específico en el núcleo pulvinar rostral ipsilateral. Además, se observa una marca de menor intensidad en el núcleo Gld. En la figura 41 se muestra un sección transversal representativa a nivel del Pulr contrateñida con Giemsa, donde se puede observar la marca más intensa en el núcleo pulvinar rostral y algo de reacción en la región medial del núcleo geniculado lateral dorsal. Un análisis en la siguiente sección de la serie sin contrateñición revela que la marca se compone de cuerpos celulares marcados retrógradamente y terminales que transportaron el trazador anterógradamente (figura 42). En todos los casos las células y los terminales se ubicaron casi exclusivamente dentro de un área restringida del núcleo,

que cambia de acuerdo con la posición de la inyección. Las células y los terminales dentro de esta área se distribuyen homogéneamente.

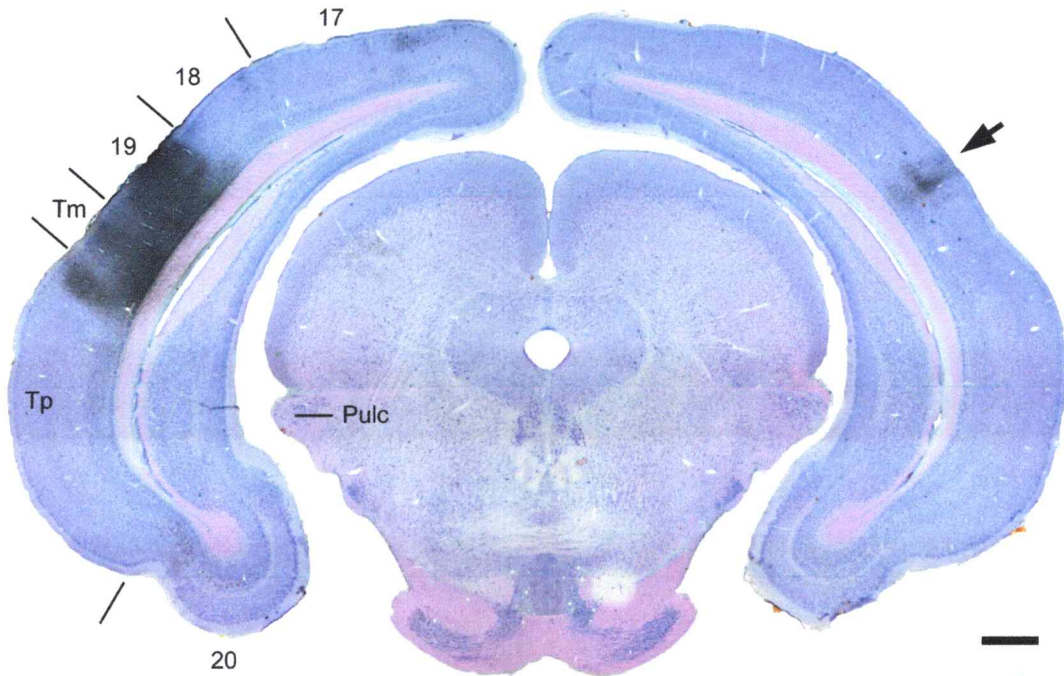


Figura 37. Inyección de CTb en el área 19 de la corteza extraestriada. Note que hay difusión del trazador a Tm, pero sin embargo la imagen contralateral del sitio de inyección se forma en el área 19, indicado por una flecha. Barra de calibración corresponde a 1 mm.

5.2.5 Inyecciones en Tp

En la figura 38 se muestra una sección transversal sometida a tinción giemsa representativa para el sitio de inyección de CTB en el corteza temporal Tp. Se puede observar que el trazador no difunde mayormente hacia las áreas dorsales o ventrales a Tp, y tal como en el caso de inyecciones en el área 19-Tm la zona que recibe la mayor densidad de trazador genera una imagen especular vía cuerpo calloso que se observa en el área Tp de la corteza contralateral. En este caso particular la imagen se forma en la

zona ventral de Tp contralateral. Esta inyección da como resultado un patrón de marcaje en el núcleo Pulc ipsilateral que afecta un porción definida del núcleo, específicamente la región lateral (figura 39). Un análisis más detallado de la marca revela que los cuerpos celulares se distribuyen heterogéneamente por todo el núcleo, mostrando una agrupación de más alta densidad en la región lateral. Esta área coincide con una marca anterógrada que probablemente representa terminales axónicos (figura 40).

Es relevante destacar la intensa marca que se observa en la división dorsal del núcleo geniculado medial (MGd) (figura 39). Esta marca se compone de células retrógradamente marcadas y terminales axónicos provenientes de la corteza Tp (figura 40).

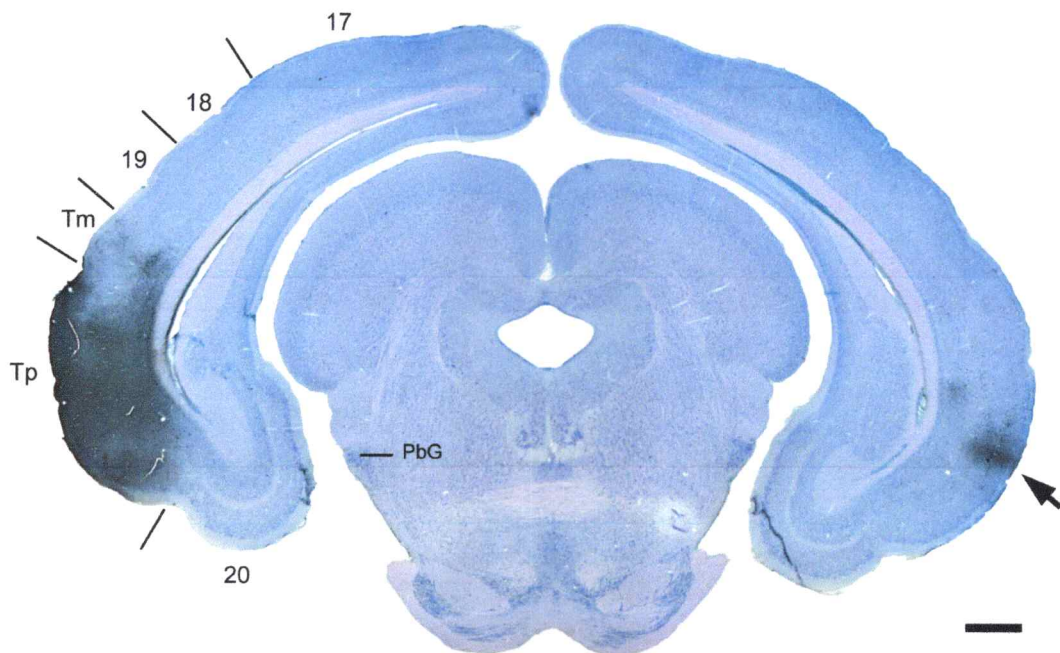


Figura 38. Inyección de CTb en el área cortical Tp del lóbulo temporal. Note que la imagen callosal del sitio de inyección se encuentra en Tp como se indica por la flecha. Barra de calibración corresponde a 1 mm.

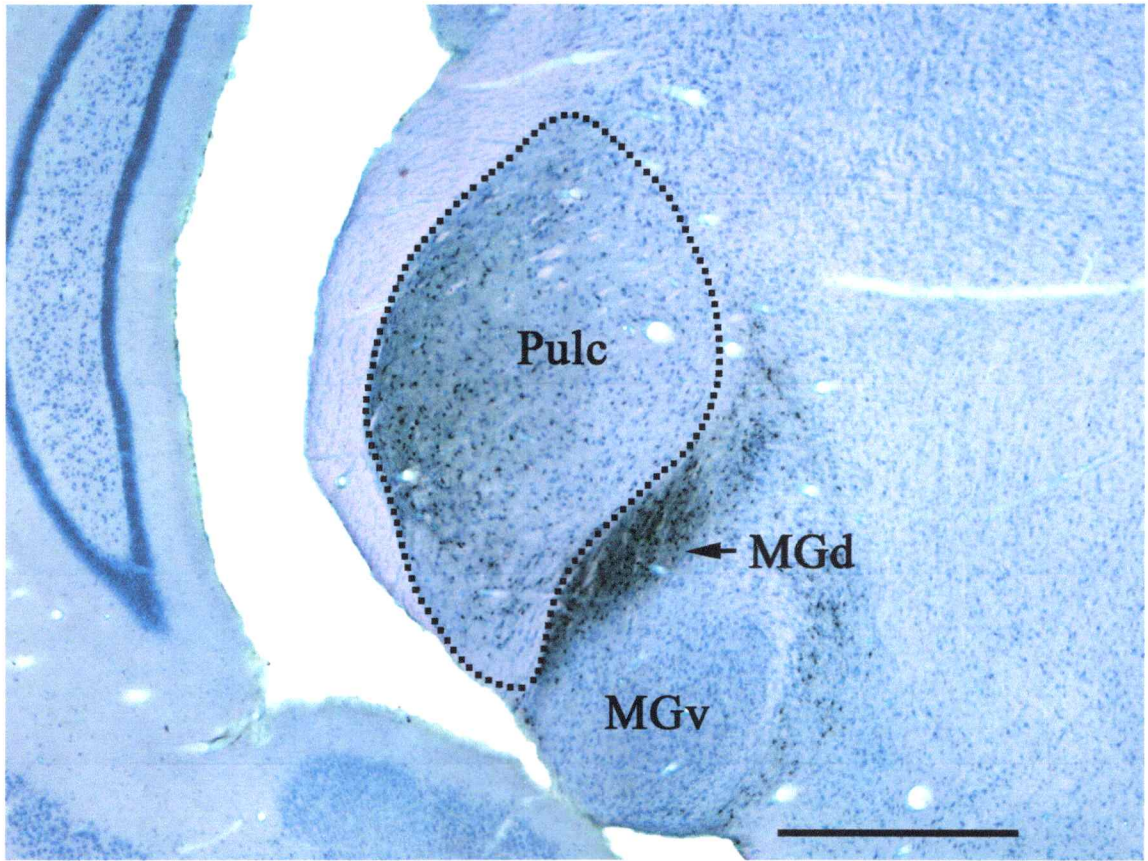


Figura 39. Patrón de marcaje retrógrado y anterógrado en el pulvinar caudal luego de la inyección de CTb en la corteza Tp ipsilateral de la figura anterior. Sección transversal representativa a nivel del Pulc sometido a tinción Giemsa. Note la distribución de la marca en el Pulc es localizada. Note la marca intensa que se observa en el geniculado medial dorsal. Barra de calibración corresponde a 1 mm.

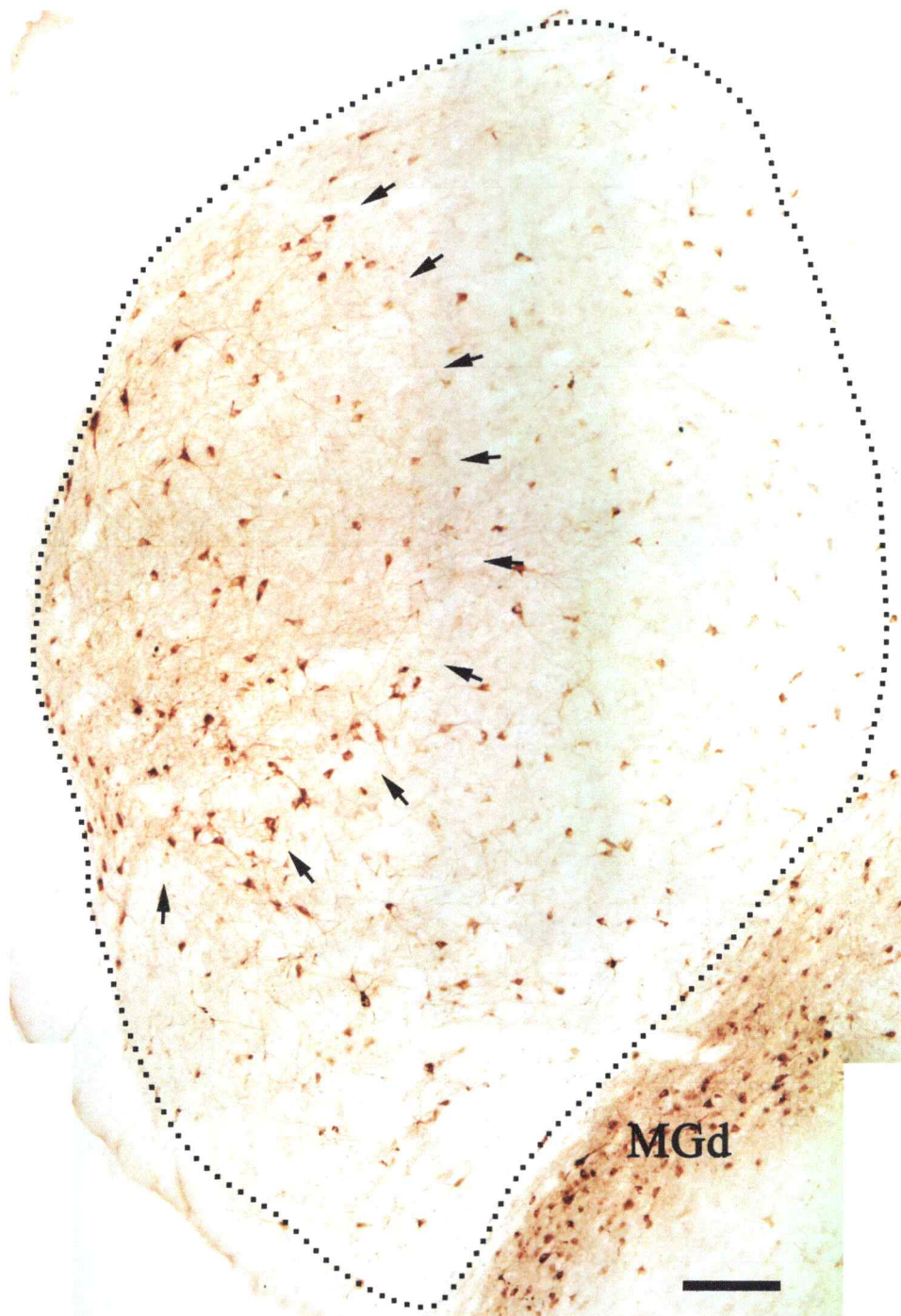


Figura 40. Patrón de marcaje retrógrado y anterógrado en el pulvinar caudal luego de la inyección de CTb en la corteza Tp ipsilateral. Sección transversal a un nivel similar que la figura 37 pero a mayor aumento y sin contra tinción. El Pulc esta delineado por línea discontinua. Note que las células marcadas retrógradamente se distribuyen por todo el núcleo sin embargo la densidad es mayor en el área lateral indicada por las flechas. Fibras marcadas anterógradamente se distribuyen homogéneamente en esta área también. Note que la marca en el MGd se compone de fibras y cuerpos celulares. Barra de calibración corresponde a 100 μ m.

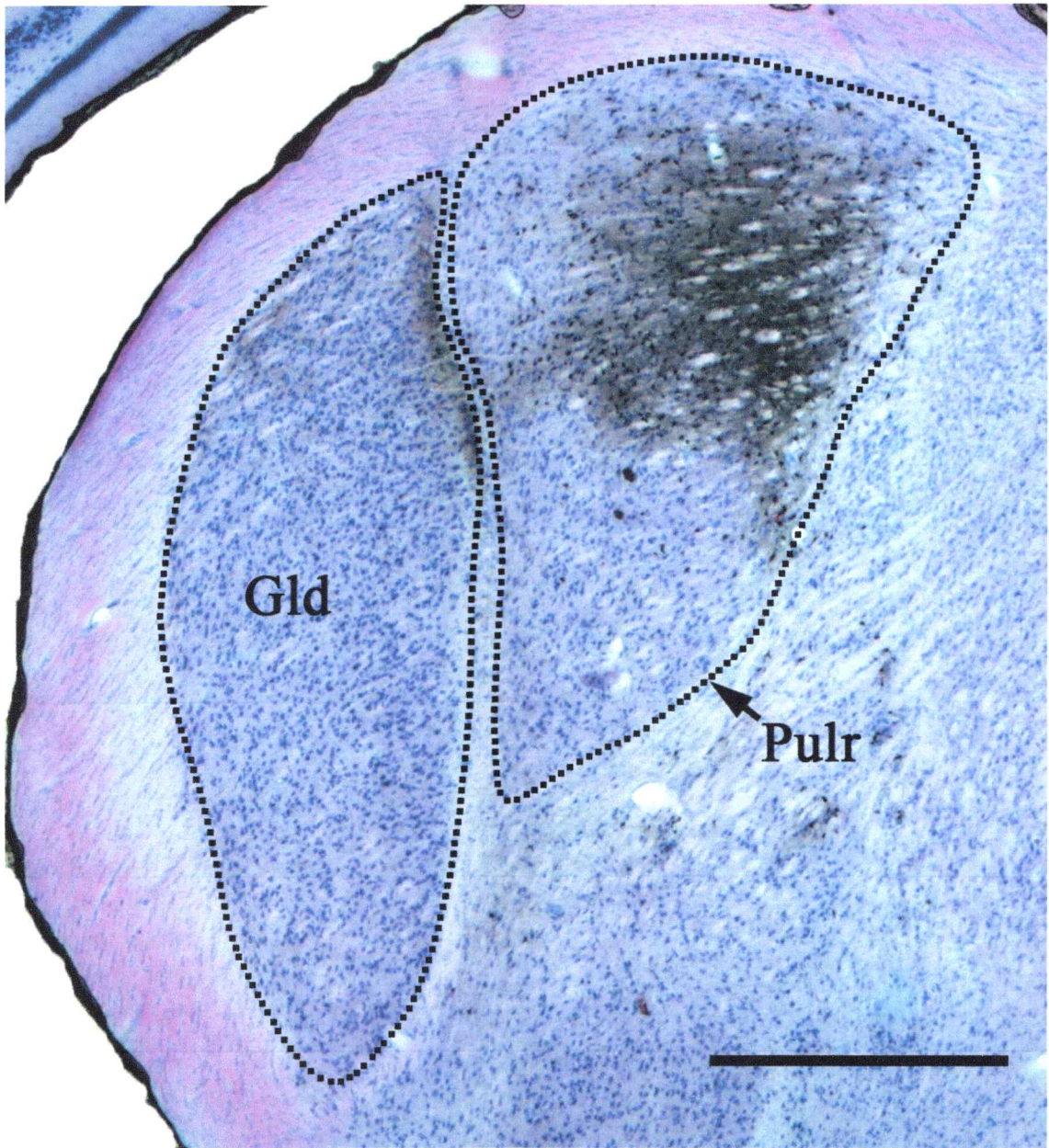


Figura 41. Patrón de marcate en el pulvinar rostral luego de una inyección de CTb en las áreas corticales 19/Tm. Sección transversal representativa a nivel del Pulr sometida a tinción Giemsa. Note la marca restringida en el Pulr y Gld. Barra de calibración= 1mm.



Figura 42. Patrón de marcaje en el pulvinar rostral luego de una inyección de CTb en las áreas corticales 19/Tm. Sección transversal a un nivel similar que la figura anterior pero a mayor aumento y sin contra tinción. El Pulv esta delineado con línea discontinua. Note que la marca de compone de fibras anterógradamente marcadas y cuerpos celulares retrógradamente marcados y que se distribuyen en una región restringida del núcleo indicada por las flechas. Barra de calibración=500 μ m.

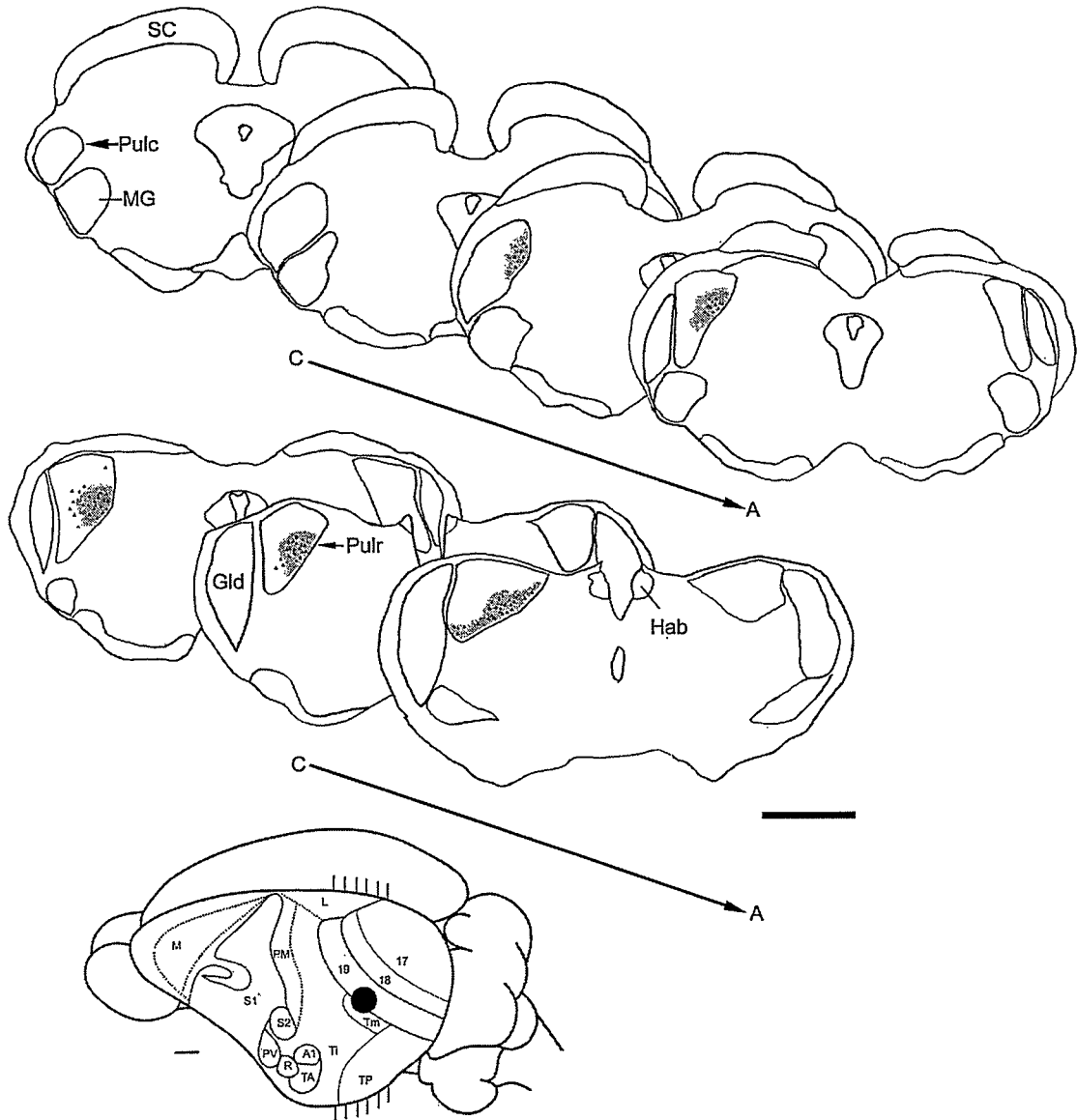


Figura 43. Representación esquemática de la marca en el complejo Pulvinar luego de una inyección de CTb en la corteza temporal. Arriba se muestran cortes transversales esquemáticos seriados con una distancia aproximada entre ellos de 250 μ m y ordenadas desde caudal a rostral como se indica en las flechas. En ellos se indican los cuerpos celulares retrógradamente marcados con triángulos negros y un sombreado gris indica la distribución de los terminales anterógradamente marcados. Abajo se muestra un esquema de la superficie cortical ipsilateral con respecto a la marca en el tálamo, donde se indica la posición relativa del sitio de inyección con un círculo negro. Se indica también la posición relativa de los cortes transversales mostrados arriba mediante líneas paralelas sobre la superficie cortical. Las barras de calibración corresponden a 1mm. para el esquema de la corteza y 2 mm. para los cortes transversales (esta descripción aplica para las figuras 41 a la 46).

En este caso note que la inyección se ubica principalmente en la parte medial del área 19 y algo en el área Tm. Note que el Pulc esta libre de marca y que la distribución de la marca el Pulr se restringe a un parche en la parte medial del núcleo. La marca anterógrada en general colocaliza con la marca retrograda.

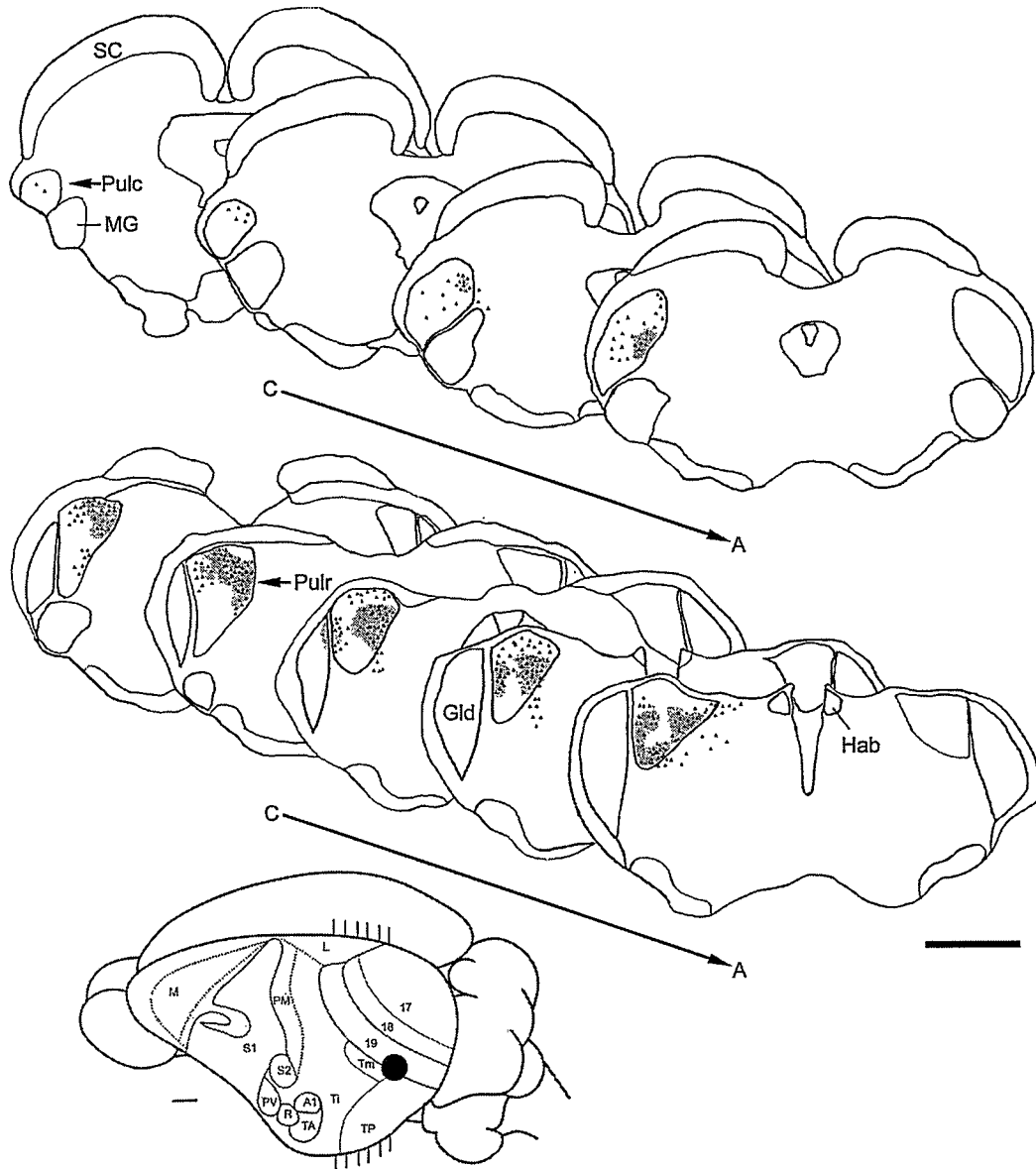


Figura 44. En este caso la inyección se localiza principalmente en el área 19, pero a diferencia de la inyección anterior, afecta el área Tp también. Note que la distribución de la marca esta principalmente en el Pulr pero es posible observar algunas células retrógradamente marcadas en el Pulc. la marca anterógrada y retrogradas en el Pulr colocalizan en un parche restringido ubicado en la región dorso medial del núcleo con algunas células fuera del parche de terminales.

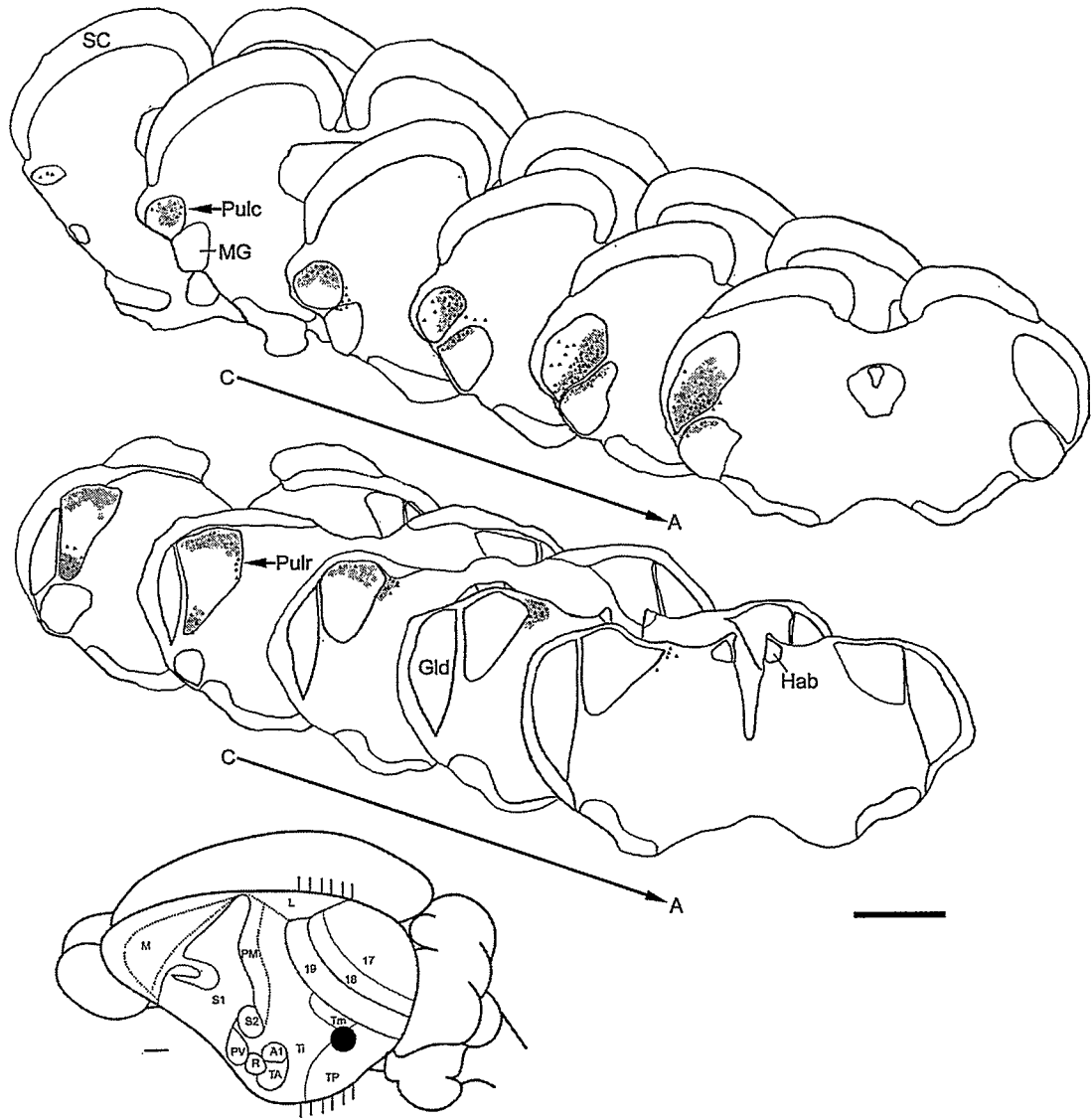


Figura 45. En este caso se observa una inyección localizada principalmente en la región dorsal del área Tp abarcando levemente el área Tm. Note que la marca se distribuye mayoritariamente en un parche restringido ubicado en la zona dorsal del Pulc en las secciones más caudales y en la zona medial del núcleo en las secciones más rostrales. Note también la marca anterógrada en la zona dorsal del Pulr.

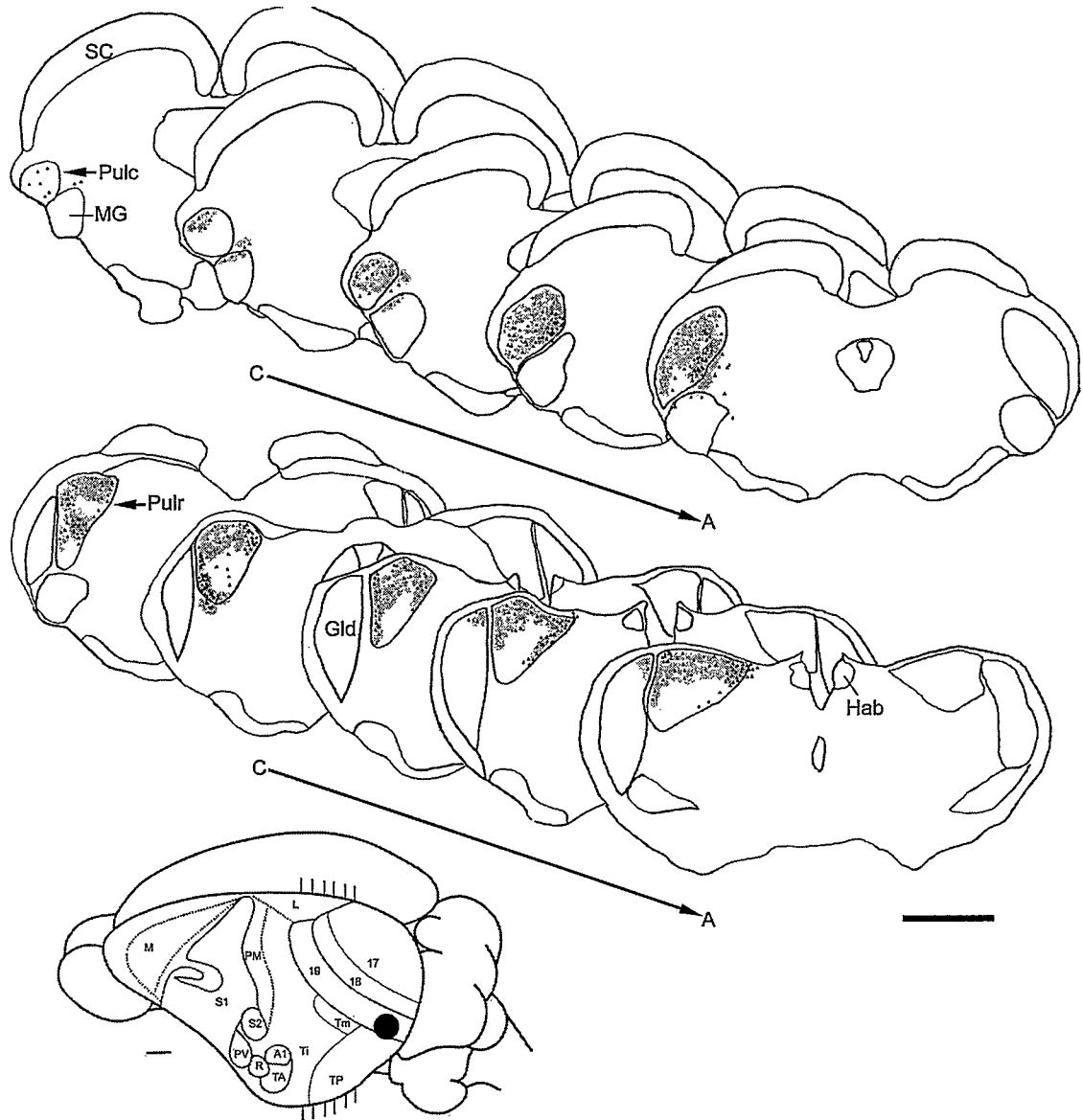


Figura 46. Este caso presenta una inyección que afecta principalmente al área 19 en su porción más caudal, aunque involucrando levemente el área Tp. Note que la marca se distribuye principalmente en un parche definido ubicado en la zona dorsal del núcleo Pulr. También se observa marca en la zona medial del Pulc en las secciones más rostrales del núcleo.

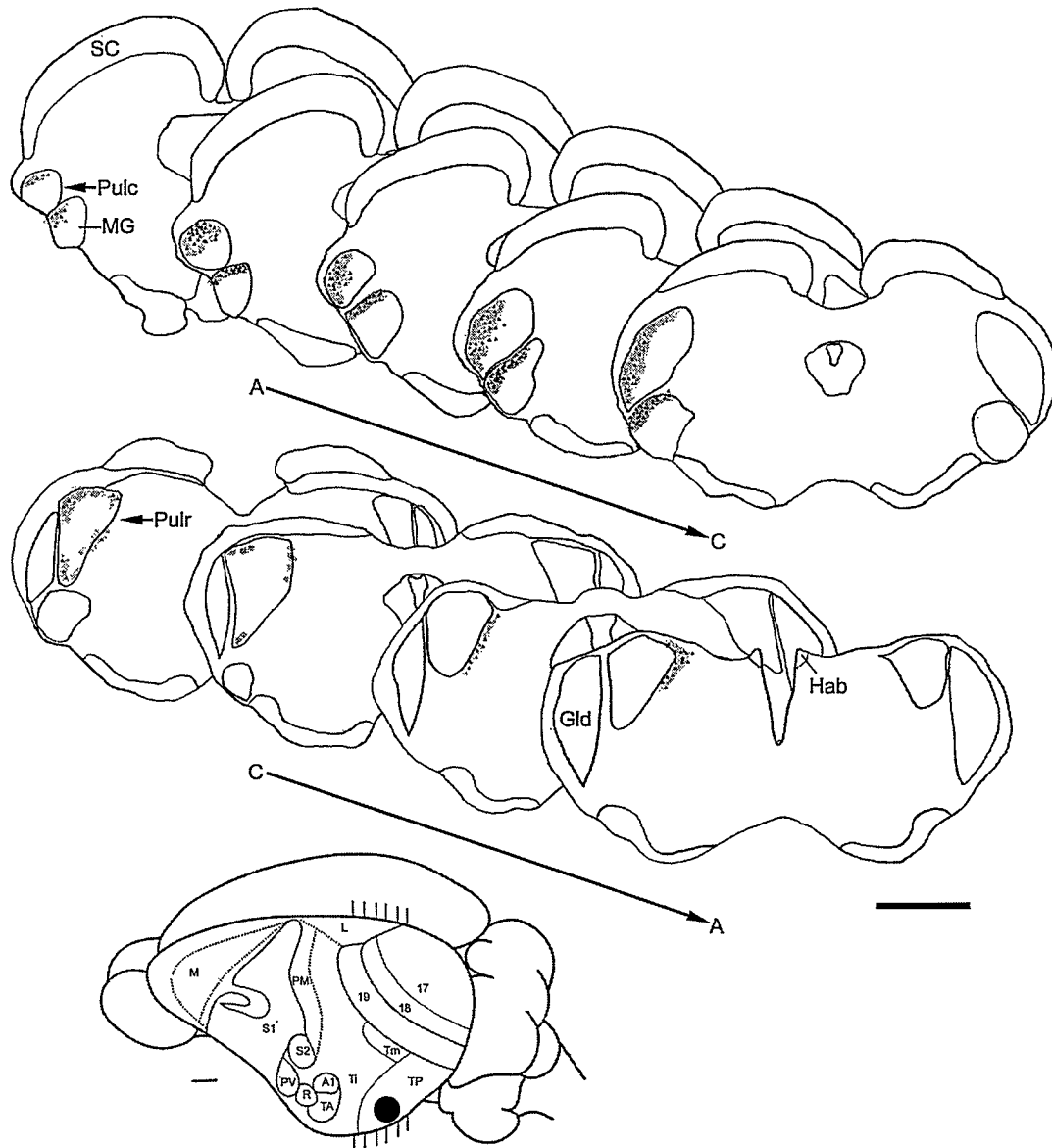


Figura 47. Esta figura presenta una inyección completamente limpia en la región ventral de Tp. La marca se distribuye casi exclusivamente en el núcleo Pulc. En las secciones más caudales del núcleo el parche se ubica en la región dorsal del núcleo, mientras que en las regiones más rostrales del mismo el parche se ubica en la zona lateral del núcleo. Note la intensa marca en la región dorsal del geniculado medial

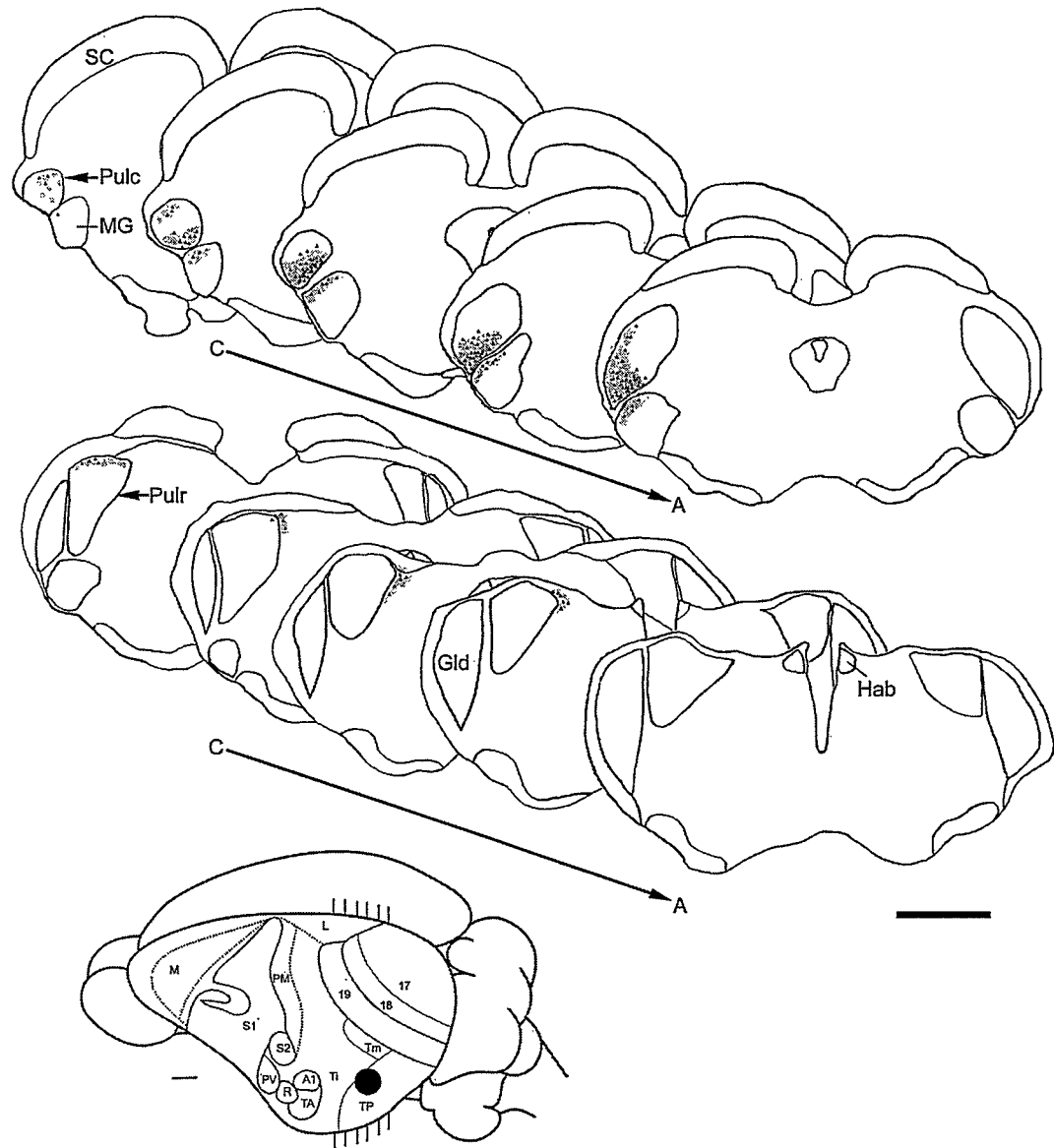


Figura 48. Este caso muestra una inyección completamente limpia en Tp, pero a diferencia del caso anterior se localiza más hacia la región dorsal de Tp. La marca se distribuye exclusivamente en el núcleo Pulc. El parche que consiste en cuerpos celulares y terminales se restringe a la región ventral del núcleo. Note la marca en la división dorsal del geniculado medial.

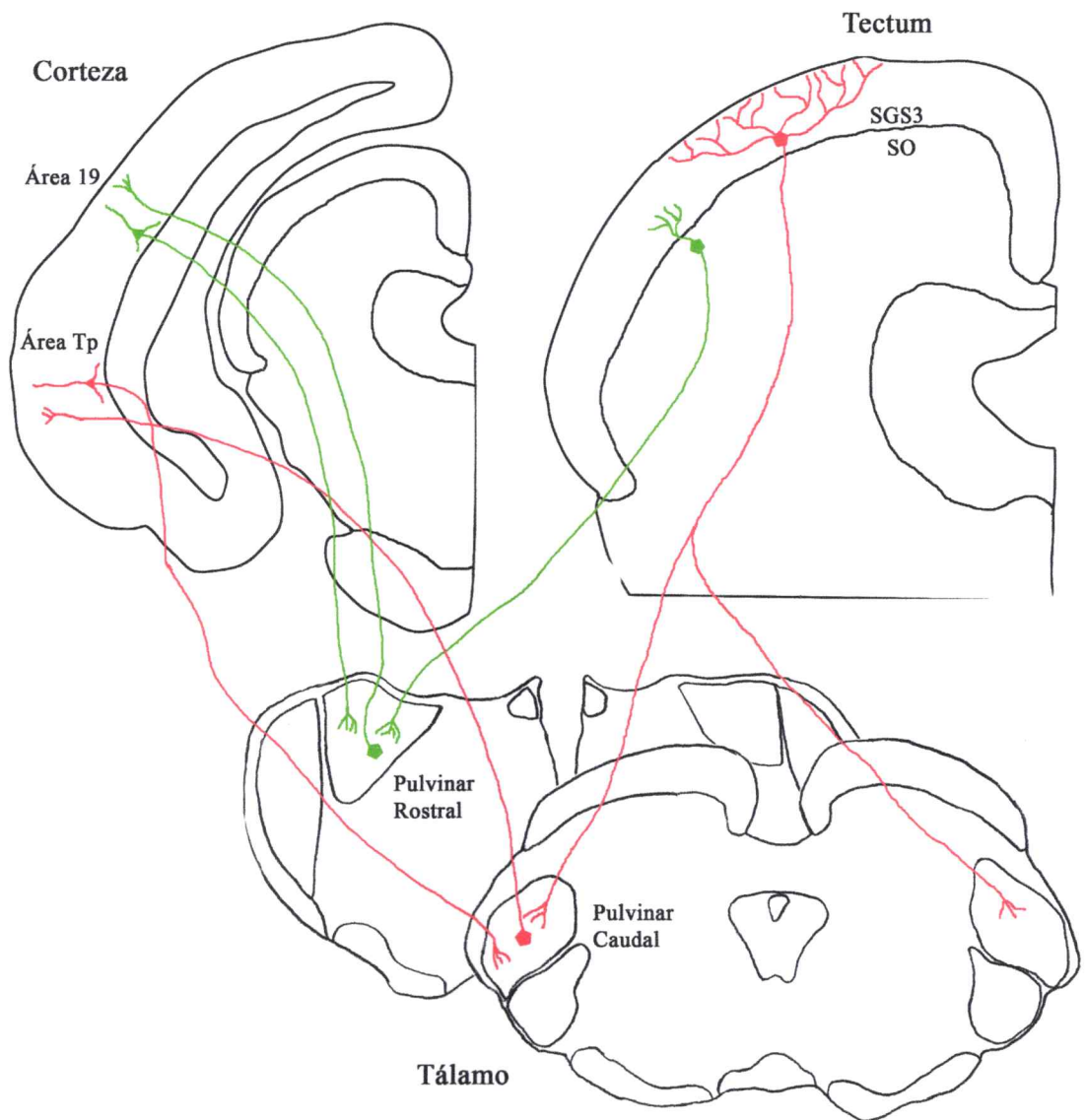


Figura 49. Esquema que resume los resultados de la conectividad tecto-pulvino-cortical. Células en el tectum de campos dendríticos grandes ubicadas en el SGS3 (en rojo) proyectan bilateralmente al pulvinar caudal y este a su vez está recíprocamente conectado con el área Tp ipsilateral de la corteza temporal (en rojo). En cambio células ubicadas en el SO del tectum (en verde) proyectan ipsilateralmente al pulvinar rostral. Este núcleo a su vez está recíprocamente conectado con el área 19 ipsilateral de la corteza temporal.

5.2.6 Topografía en la proyección pulvino-cortical

Las inyecciones corticales de CTb en las áreas Tp y 19-Tm demuestran una conectividad reciproca de estas áreas con los núcleos pulvinar caudal y rostral respectivamente. Las inyecciones en Tp específicamente generan un patrón de células retrógradamente marcadas y fibras marcadas por transporte anterógrado que en localizan en el pulvinar caudal (figuras 45, 47 y 48). Además este parche de marca anterógrada y retrograda cambia su posición consistentemente de acuerdo a la localización del sitio de inyección (figuras 45, 47 y 48), sugiriendo un arreglo topográfico en la proyección.

Las inyecciones en el área 19-Tm generan un patrón de marcaje anterógrado y retrógrado tal como las inyecciones en Tp. Sin embargo, la marca resultante en el núcleo pulvinar rostral aunque restringida, no esta localizada en un solo locus dentro del núcleo al apreciarlo es su extensión rostrocaudal (figuras 46 y 44). A pesar de este comportamiento, la marca anterógrada retrograda cambia de posición dentro del núcleo pulvinar rostral, al cambiar la localización del sitio de inyección en la corteza (figura 43, 44 y 46). Estos resultados sugieren que la proyección del pulvinar caudal a la corteza temporal Tp, y la proyección del pulvinar rostral al área cortical 19-Tm se organizan topográficamente, al menos de manera gruesa

5.2.7 Proyecciones cortico-estriatales y pulvino-estriatales

Vimos que las inyecciones de CTb en el pulvinar caudal dieron como resultado una marca anterógrada en la corteza temporal. Además de esta proyección, estas inyecciones resultaron en un marcaje anterógrado en una región del subpallio, específicamente en el estriado dorsal o caudado putamen (figura 50). Las fibras marcadas se distribuyen en la parte lateral del núcleo manteniendo esta posición entre diferentes sitios de inyección. Sin embargo la marca se mueve ligeramente en el eje dorso ventral al cambiar el sitio inyectado en el pulvinar caudal. Es necesario destacar que no observamos ningún tipo de marca en ninguna de las divisiones de la amígdala.

Los experimentos de inyecciones de CTb en la corteza temporal dieron como resultado un marcaje anterógrado y retrógrado en dos regiones del subpallio: el caudado putamen y el globos pallidus. La marca anterógrada se localiza en la región lateral del caudado putamen (figura 51), la distribución de terminales es muy similar a aquella que resulta luego de inyecciones en el pulvinar caudal (figura 50). Por otro lado, las inyecciones en la corteza temporal resultaron en un marcaje retrógrado de algunas células en la región lateral del globos pallidus (figura 51). Estas inyecciones resultaron también en fibras marcadas anterógradamente en la región palial o basolateral de la amígdala, yuxtapuesta a la región marcada del caudado putamen (figura 51).

En resumen, la vía colo-pulvino cortical se compone de dos vías paralelas, la que proviene ipsilateralmente de las células de la lamina SO del colículo superior, que proyectan al pulvinar rostral, y este núcleo a su vez se conecta recíprocamente con la

corteza 19-Tm ipsilateral. La otra vía en cambio, se origina en las células localizadas en la capa SGS3 del colículo superior que proyectan bilateralmente al pulvinar caudal, este núcleo a su vez se conecta recíprocamente con la corteza temporal ipsilateral Tp (figura 49). En su camino a la corteza Tp, los axones provenientes del Pulc pareciera que envían una colateral al caudado putamen.

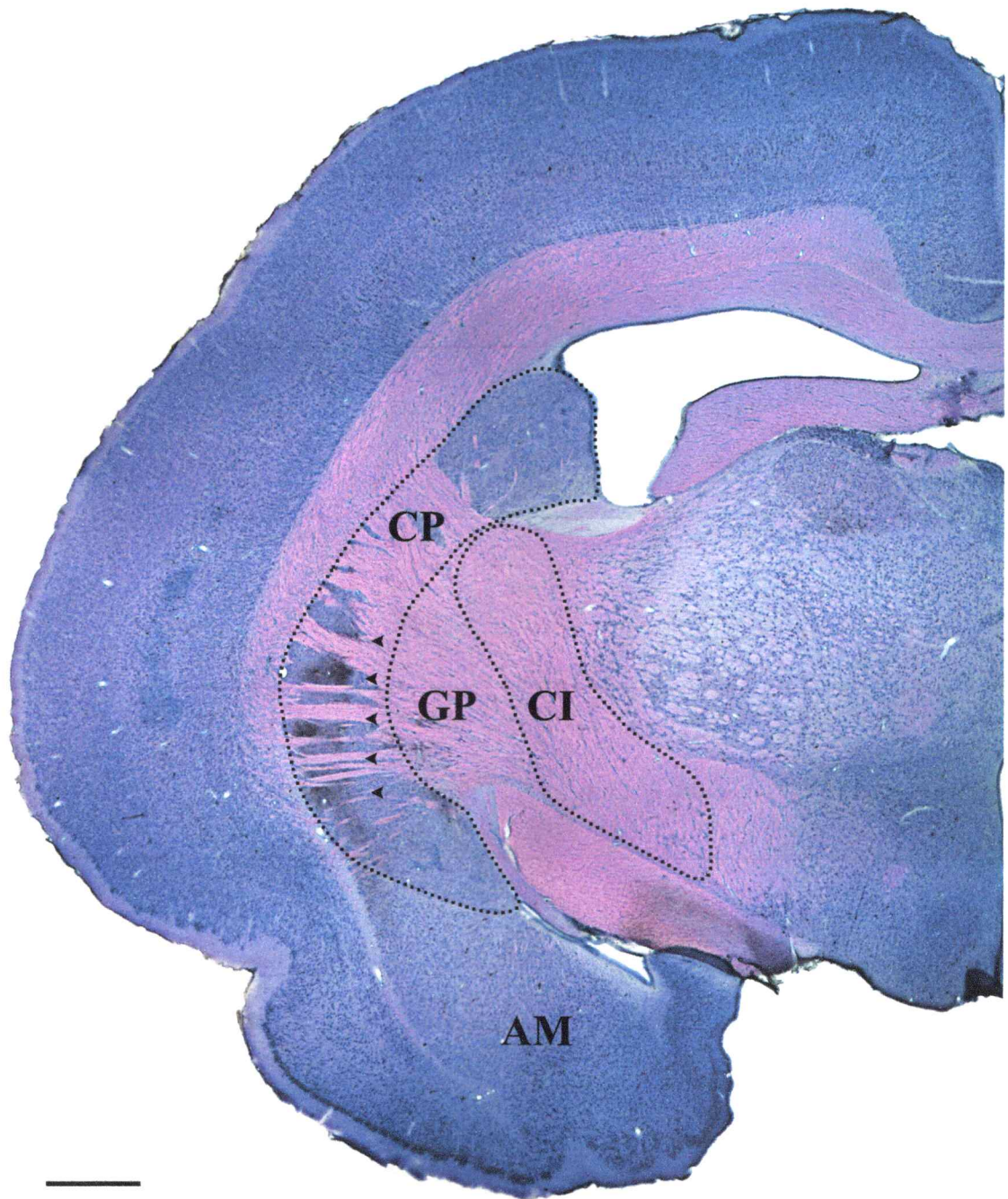


Figura 50. Terminales en el estriado luego de inyección de CTb en el núcleo pulvinar caudal. Transporte anterógrado localizado en la región lateral del caudado putamen indicado por cabezas de flecha, como resultado de una inyección de CTb en el núcleo pulvinar caudal. Note la ausencia de marca en la amígdala. Barra de calibración= 1mm.

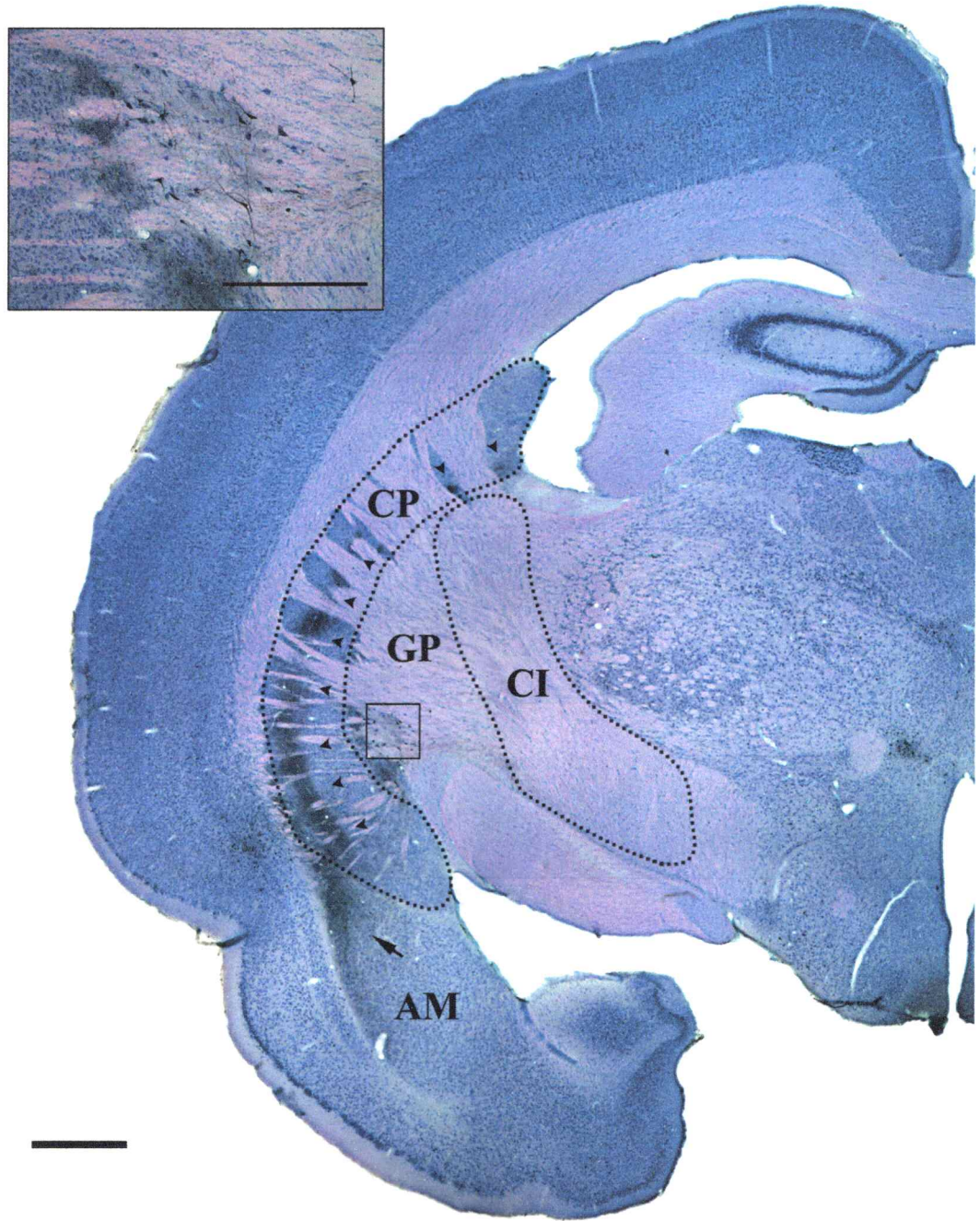


Figura 51. Terminales y cuerpos celulares en el estriado y amígdala, luego de una inyección de CTb en la corteza temporal. Esta figura presenta una sección representativa de los resultados a nivel del estriado de una inyección de CTb en la corteza temporal como la que se muestra en la figura 37. Se puede observar un transporte anterógrado en la región lateral del caudado putamen indicado por cabezas de flecha. El transporte anterógrado en la región dorsal de la amígdala se indica por una flecha. El recuadro en el borde superior derecho de la figura corresponde a una fotografía a mayor aumento del encuadre a nivel del globos pallidus, en el se pueden observar células retrógradamente marcadas. La barra de calibración de la figura principal corresponde a 1 mm. y la del recuadro a 500 μ m.

6. Discusión

6.1 Anatomía de la vía tectofugal

6.1.1 Definición y divisiones citoarquitectónicas del E

Nuestro primer objetivo fue definir los límites del entopallio, debido a que en la literatura existen discrepancias respecto de este punto (Braun et al., 1985; Laverguetta & Shimizu, 2003, Krutzfeldt & Wild, 2004). El primer método empleado para este propósito fue montar secciones húmedas en los planos transversal y horizontal, puesto que en ellas el entopallio aparece definido como una zona de mayor opacidad a la luz. Luego estas secciones fueron tratadas con una tinción Nissl en orden de observar diferencias citoarquitectónicas que evidenciaran los límites entopalliales.

Krutzfeldt & Wild (2005) realizaron un estudio para definir los límites del entopallio en la paloma, utilizando el método de secciones húmedas y la tinción de Nissl. A diferencia de nuestro estudio, los autores realizaron los cortes solo en el plano transversal. Nuestros resultados del tejido húmedo en el plano transversal y los resultados de Krutzfeldt & Wild (2005) coinciden con los límites del entopallio propuestos en el atlas de la paloma (Hodos & Karten, 1969). Además, nuestro análisis del tejido húmedo en el plano sagital resulta en un E que es congruente también, con los límites del entopallio en plano sagital propuestos en el atlas de la paloma (Hodos & Karten, 1969).

Krutzfeldt & Wild (2005) concluyen como resultado del análisis de sus secciones con tinción Nissl, que el nidopallio circundante al E posee un empaquetamiento celular más denso, distinguiendo un borde dorsal del entopallio. En nuestro examen de las secciones

con tinción Nissl fue evidente un límite ventral con el estriado lateral. Sin embargo no pudimos apreciar un límite dorsal claro por este método.

En un segundo experimento realizamos una inyección múltiple de BDA en el Rt con el objetivo de contrastar los límites del núcleo descritos en los experimentos anteriores y los límites de las aferencias rotundas. Un segundo objetivo de este experimento fue observar si existe alguna evidencia de partición rostro caudal o dorso ventral en el núcleo en términos de sus aferencias rotundas.

Como resultado de este experimento fue posible observar que la distribución de terminales rotundas en el entopallio coincide con los límites del núcleo descritos en los experimentos de tejido montado húmedo y con los límites del núcleo en el atlas de la paloma (Hodos & Karten, 1969). Además, como resultado de este experimento fue posible observar una partición rostro caudal del entopallio, en la que se distinguen una división anterior en forma de gota muy bien delineada por una alta densidad de terminales del Rt, una división caudal de forma triangular que también es delineada por una alta densidad de terminales, y una división central de forma triangular, que se caracteriza por una densidad más baja de terminales, y cuyo lado más largo coincide con el límite ventral del E.

Otros estudios han intentado delimitar el entopallio y encontrar divisiones anatómicas en el E utilizando el método de inmunohistoquímica para CO (Krutzfeldt & Wild, 2004; Hellman et al., 1995). Los resultados de estos experimentos demostraron que la zona positiva para CO coincide con la definición de los límites dorsales del E en tejido

montado en agua, y con los límites de las aferencias rotundales. Sin embargo estos estudios no entregan ninguna clase de evidencia de una partición rostro caudal del E.

6.1.2 Topografía en la proyección rotundo entopalial

Varios estudios previos han mostrado que la proyección rotundo entopalial se organiza de forma zonal, de modo que la división dorsal anterior del rotundus proyecta a la zona más rostral del E, la división centralis a la zona central del E y la división posterioris del Rt a la zona más caudal del entopalio (Benowitz & Karten, 1976; Nixdorf & Bishof, 1982; Laverguetta & Shimizu, 2003; Krutzfeldt & Wild, 2004). Nosotros quisimos confirmar esta interpretación y además averiguar si existe una correspondencia de estas zonas con la partición rostro caudal que sugerimos anteriormente. Para ello realizamos pequeñas inyecciones de BDA en las diferentes subdivisiones del núcleo Rt.

Inyecciones en la división dorsal anterior del Rt generan una marca anterógrada muy bien definida en la región anterior del E que coincide perfectamente con la zona de mayor densidad de terminales observada en la inyección múltiple de BDA. Una de las inyecciones se localizó en la región dorsal de la división centralis con difusión del trazador hacia Post, lo que produjo una marca anterógrada en toda la región dorsal del E exceptuando la parte rostral. Otra inyección abarcó la región ventral de Ce y el trazador difundió levemente a Post, como resultado de esta inyección se observa una marca anterógrada que se extiende por toda la porción ventral del E exceptuando la región rostral. Por último una inyección abarcó la división Post con una leve difusión del

trazador a Ce, resultó en una marca anterógrada que se distribuye en toda la región posterior del E y sólo parte de la región central del entopallio. Una superposición de todas estas inyecciones deja al entopallio completamente cubierto de terminales. Y una sustracción del área marcada luego de las inyecciones en la división centralis y la inyección en la división posterior del rotundus revela un área central que se ajusta bien a la región central sugerida en el experimento de inyección múltiple en el rotundus, la que como se mencionó anteriormente, ocupa la mayor parte del entopallio ventral.

Nuestra interpretación de estos resultados es que la división anterior del E está definida por las aferencias de alta densidad desde la subdivisión Da del Rt, y posee una forma de gota. La división caudal del E está caracterizada por aferencias muy densas también, pero provenientes de la división Post del Rt, es de forma triangular cuyo lado mayor corresponde con el límite dorsal del E. Por último una región central definida por aferencias menos densas que las otras regiones desde la división Ce.

6.1.3 Topografía punto a punto en la proyección rotundo entopallial

Estudios previos en la topografía rotundo entopallial han demostrado una proyección zonal que fue confirmada en el presente estudio. Las inyecciones de BDA en la zona dorsal y ventral de la división Ce del Rt sugieren que al menos en esta zona existe una topografía directa más fina. Nosotros investigamos esta posibilidad mediante la inyección de trazadores retrógrados fluorescentes en su forma sólida cristalina en las diferentes zonas del E previamente definidas. No hay estudios precedentes que hayan

investigado a este nivel la topografía en la proyección rotundo entopalial, principalmente debido a la dificultad técnica de llevar a cabo inyecciones dobles tomando en cuenta que los trazadores líquidos difunden, lo que resulta en una superposición de los sitios de inyección. Por esta razón, usando un microinyector de trazadores sólidos logramos dobles inyecciones de True Blue y DiI en las distintas zonas del E sin superposición de los sitios de inyección. En la figura 13 se muestra una inyección doble en la zona anterior del E, en la que ambos cristales se ubican al mismo nivel vertical, y en el plano horizontal True blue se ubica 100 μm más lateral que el DiI. Como resultado de estas inyecciones se observaron cuerpos celulares retrógradamente marcados en la subdivisión dorsal anterior del Rt, lo que esta de acuerdo con la topografía zonal antes mencionada. Dentro de la subdivisión se pueden distinguir dos grupos de células marcadas diferencialmente con DiI y True Blue. Aunque se pueden observar ambos tipos de células en gran parte de la subdivisión, es evidente que hay muchas más células marcadas con True Blue en la región lateral de la subdivisión y hacia medial un conjunto de células marcada con DiI, lo que sugiere un arreglo topográfico al menos dentro de la subdivisión Da y su correspondiente zona entopalial. En la región central de la subdivisión se puede observar un grado de superposición de los grupos celulares con la presencia de células doblemente marcadas. El comportamiento de las dobles inyecciones en las otras dos divisiones del entopalio fue similar al recién descrito: la posición de los grupos de células diferencialmente marcadas se relaciona directamente con la posición de los cristales en la división del entopalio.

Estos resultados sugieren que existe una topografía fina directa dentro de la proyección de cada subdivisión del Rt y correspondiente zona entopalial. Si esto es cierto, al separar o acercar los cristales dentro de una división del E, resultaría en que los grupos celulares marcados diferencialmente se aparten o se acerquen dentro de la división correspondiente en el rotundus.

Para contrastar esta posibilidad llevamos a cabo dos tipos de experimentos: uno en que los cristales están separados 500 μm y otro en que los cristales están muy cerca uno del otro. En la figura 17 se muestra el primer experimento donde los cristales se distanciaron 500 μm uno del otro en el eje horizontal. Siguiendo la predicción, los grupos de células se separaron en la subdivisión Ce del Rt comparado con los experimentos donde los cristales se ubican a menos de 100 μm , no se aprecia la superposición de los conjuntos de células marcadas, y tampoco es posible observar células doble marcadas. El experimento opuesto se muestra en la figura 16, donde los cristales en la división central del E se tocan. Los resultados en este caso apoyan también la hipótesis de la topografía directa en la proyección rotundo entopalial. Los grupos celulares marcados diferencialmente son distinguibles, pero presentan un área de superposición más grande y se observan muchas células doble marcadas en el área superpuesta, en comparación a los casos donde los cristales están más separados en el E.

Aunque cualitativamente los experimentos muestran una correlación entre la posición de los cristales en el E y la posición y grado de solapamiento en los grupos celulares en las distintas subdivisiones, llevamos a cabo una aproximación cuantitativa para resumir

todos los casos con inyecciones cristalinas en el E, y evaluar con métodos estadísticos las observaciones cualitativas. Para eso realizamos una medición normalizada de la distancia en las 3 coordenadas de la posición de los cristales con respecto a los límites citoarquitectónicos de la región, como se indica en la figura 17. Luego procedimos a someter a las nubes de puntos a una regresión lineal. Los resultados indican que los valores de los coeficientes de correlación (r) de las curvas de regresión son significativos solamente para los gráficos mostrados en la figura ($r > 0.4$), es decir antero posterior en el Rt versus antero posterior en el E, dorso ventral en el Rt versus dorso ventral en el E y latero medial en el Rt versus latero medial en el E. Esto confirma nuestras observaciones cualitativas de que el movimiento de los cristales en el E, es seguido linealmente en los ejes respectivos por los grupos celulares en el Rt.

Los resultados de los experimentos en que los cristales fueron posicionados muy separados y muy cerca uno de otro en el E, sugieren un diámetro de arborización de los axones rotundales en el entopodio no mayor a $200\mu\text{m}$. Con este problema decidimos de llevar a cabo inyecciones extracelulares pequeñas de BDA en el Rt, de modo de observar la morfología de los axones y sus arborizaciones en el E. En la figura 18 se observa la reconstrucción de un axón rotundal luego de una inyección pequeña de BDA en la región dorsal de Da. Esta fibra parece ser un axón individual, sin embargo este método no es conclusivo para determinar fibras individuales. La reconstrucción fue a partir de tres secciones contiguas de $60\mu\text{m}$ cada una, sin embargo no fuimos capaces de seguir el axón en su porción más ventral. La sección más ventral del axón está desprovista

completamente de ramificaciones y es mucho más gruesa que las ramas más dorsales. Una vez que el axón ha ascendido unos 50 μm hacia dorsal, comienza a ramificar profusamente, con un consiguiente adelgazamiento de las fibras, las que finalmente ramifican en procesos que terminan en botones, que probablemente son los lugares donde se producen contactos sinápticos.

Estudios previos de la morfología de los axones rotundales en el E, han trabajado en base a inyecciones extracelulares o tinción de Golgi (Tömböl et al, 1993; Tömböl, 1991a) por lo que sus descripciones tampoco precisan que los axones reconstruidos sean individuales. La morfología de ramificación en nuestro caso es muy similar en la forma de los axones y botones sinápticos mostrados en estudios previos (Tömböl et al, 1993; Tömböl, 1991a), sin embargo la densidad de axones marcados en estos estudios es muy alta, lo que hace muy difícil la tarea de comparación con nuestros resultados.

6.1.4 Divisiones anatómicas del entopalio: rostro-caudal versus dorso-ventral

Krutzfeldt & Wild (2005) realizaron también una inyección múltiple de BDA en el Rt. En ese estudio el tejido fue cortado en el plano transversal, a diferencia de nuestro experimento que fue procesado en el plano sagital. Esta diferencia en el plano de corte es muy relevante para determinar la orientación de una partición citoarquitectónica. Como resultado de este experimento, Krutzfeldt & Wild (2005) describieron dos divisiones anatómicas; una porción interna y otra externa organizadas como capas en

una cebolla, es decir, dorso ventralmente. Según los autores estas divisiones son distinguibles por un patrón diferencial de marcaje en el E: las aferencias rotundas del E externo son más densas que el E interno.

Krutzfeldt & Wild (2005) muestran que la partición interno/externo del entopalio es observable también por una mayor densidad de cuerpos celulares inmunoreactivos para parvalbumina en la división interna del E en el plano transversal. En dicho estudio se muestra que el E interno se conecta recíprocamente con un núcleo llamado MVL en el mesopalio mientras que la división externa del E proyecta al estriado lateral.

Nuestros resultados muestran que las tres divisiones rostro caudales sugeridas por densidad diferencial de las aferencias rotundas en el entopalio, son observables desde el límite medial hasta el límite lateral del núcleo. Esta observación no parece estar de acuerdo con la división interno/externo del entopalio de Krutzfeldt & Wild (2005), debido a que si estas divisiones se organizan como capas en una cebolla, al ser visualizadas en el plano sagital, los cortes correspondientes a los límites más mediales y laterales del E, solo deberían mostrar la división externa del entopalio.

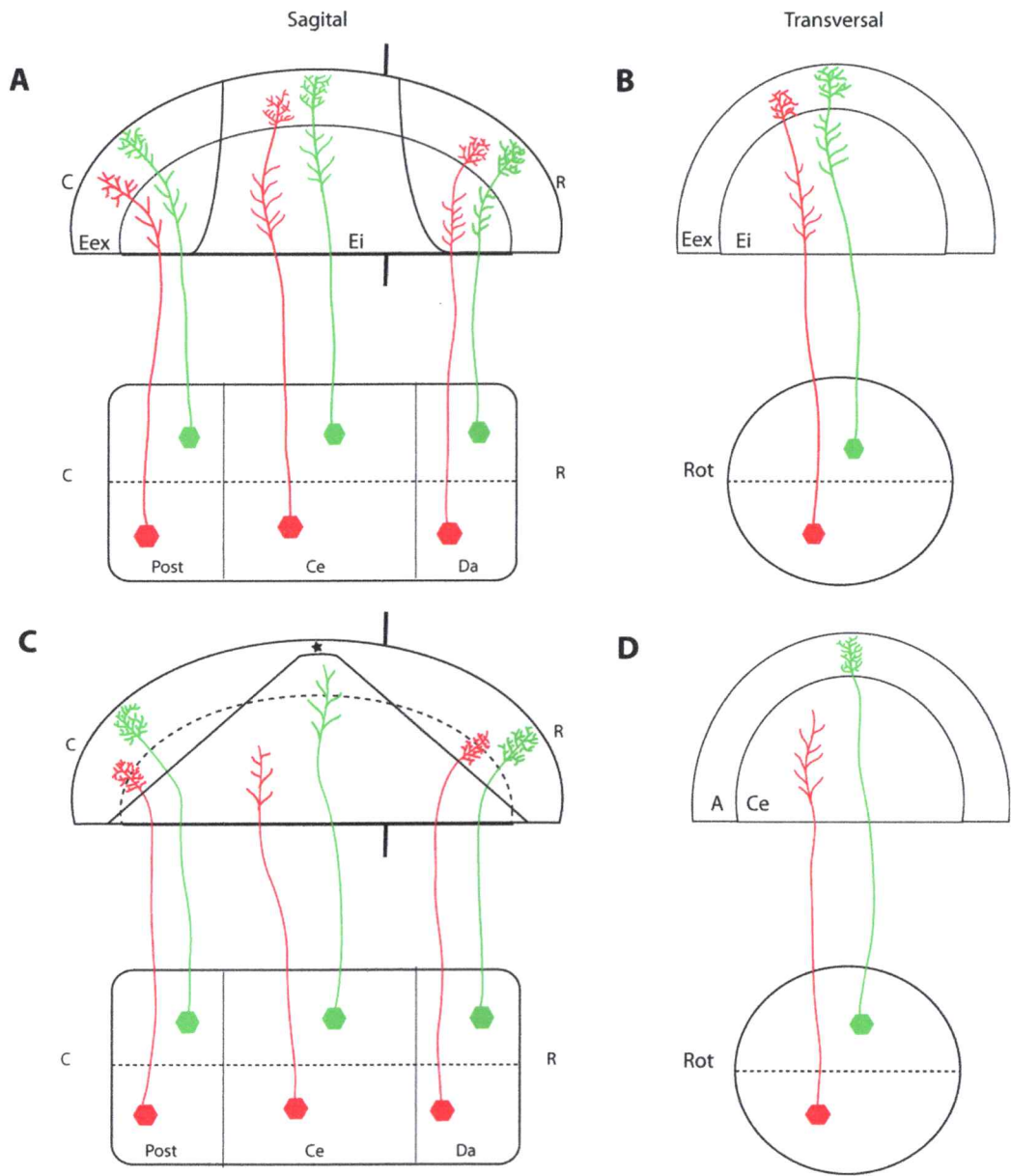
Además, los autores apoyan la organización zonal en la proyección, asumiendo una partición rostro caudal del entopalio. Como consecuencia de esta regionalización cada una de las divisiones rostro caudales del E debe poseer una región perteneciente al E interno y otra dorsal al E externo. Si esta hipótesis es cierta, la arborización de los axones del Rt en el E debería ser columnar, en otras palabras, una vez que un axón individual entra en una división rostro caudal del E, debería inmediatamente dejar

terminales en la parte interna de dicha subdivisión, luego ascender y arborizar más densamente en la región externa de esa división formando una topografía gruesa en la proyección de cada división del Rt a su correspondiente zona entopalial. Dado que la partición E interno externo es continua en el eje rostro caudal, deberíamos esperar que cada zona en el E tuviera una parte interna y otra externa. Nosotros proponemos un modelo de topografía zonal en la cual la división central del E que recibe aferencias de la subdivisión centralis del rotundus, correspondería al E interno propuesto por Krutzfeldt & Wild (2005), y debido a que cada zona entopalial se organiza topográficamente “punto a punto”, los axones deberían arborizar de forma no columnar y específica. Por ejemplo, un axón individual proveniente de la porción dorsal de la división central del rotundus al entrar al E no debería arborizar hasta llegar a la región dorsal de la zona entopalial correspondiente.

A pesar de que logramos un solo caso de reconstrucción de un axón probablemente individual, nuestros resultados apoyan la hipótesis de la no columnaridad en la proyección del Rt sobre el E. Estos resultados sugieren que la arborización de los axones del Rt es discreta, no sobrepasando un área de más de 150 μm , por lo que el grado de superposición de los terminales rotundales en el E es consistente con el número de células doble marcadas en los experimentos de inyecciones dobles de trazadores cristalinos en el E.

Figura 52 (Pagina siguiente). Esquema de los modelos propuestos para la organización de la proyección rotundo entopialial. A y B: representación esquemática de la proyección de las células rotundales (hexágonos rojos y verdes) según Krutzfeld & Wild, (2005) en un corte sagital (A) y transversal (B). Según estos autores la división interna del entopalio (Ei) recibe aferencias de menor densidad que el entopalio externo (Eex) de modo que las células del rotundus proyectarían columnarmente dejando terminales en ambas divisiones del entopalio con densidad diferencial. Esta organización no es compatible con una topografía dorso ventral en la proyección. En este modelo cada división entopialial posee un componente de la partición Ei e Eex. C y D: representación esquemática del modelo propuesto en este estudio. Las células rotundales (hexágonos rojos y verdes) proyectarían de un modo no columnar sobre el entopalio. En un corte sagital (C) la división central del entopalio recipiente de la subdivisión Ce del rotundus, corresponde con la división interna del E propuesta por Krutzfeld & Wild, (2005) (indicada por una línea punteada). Las células rotundales dejan

La línea punteada en el rotundus indica la línea media en el eje horizontal. Las líneas negras paralelas en A y C corresponden al sitio de corte aproximado representado en B y D. El asterisco en C corresponde a al sitio libre de fibras rotundales en el entopalio.



6.1.5 Dlp y la proyección topográfica del tectum al tálamo dorsal

Luppino et al. (1988) describieron que la división rostral del pulvinar en la musaraña arborícola, recibe una proyección topográfica y exclusivamente ipsilateral de las capas superficiales del colículo superior (a diferencia de la proyección bilateral a la división caudal) y que proyecta a la corteza visual extraestriada. Un interés adicional en este estudio fue investigar si existe un núcleo equivalente en aves, en términos de sus aferencias desde el techo del mesencéfalo.

Gamlin & Cohen (1986), describieron un núcleo en el tálamo dorsal de la paloma llamado núcleo dorso lateralis posterior (Dlp), que se ubica dorso medialmente con respecto al núcleo rotundus y recibe una proyección ipsilateral del tectum (a diferencia de la proyección bilateral al rotundus). Los autores realizaron inyecciones de HRP en la región caudal de Dlp obteniendo como resultado células retrógradamente marcadas en las capas superficiales del tectum ipsilateral como se muestra en la figura 48.

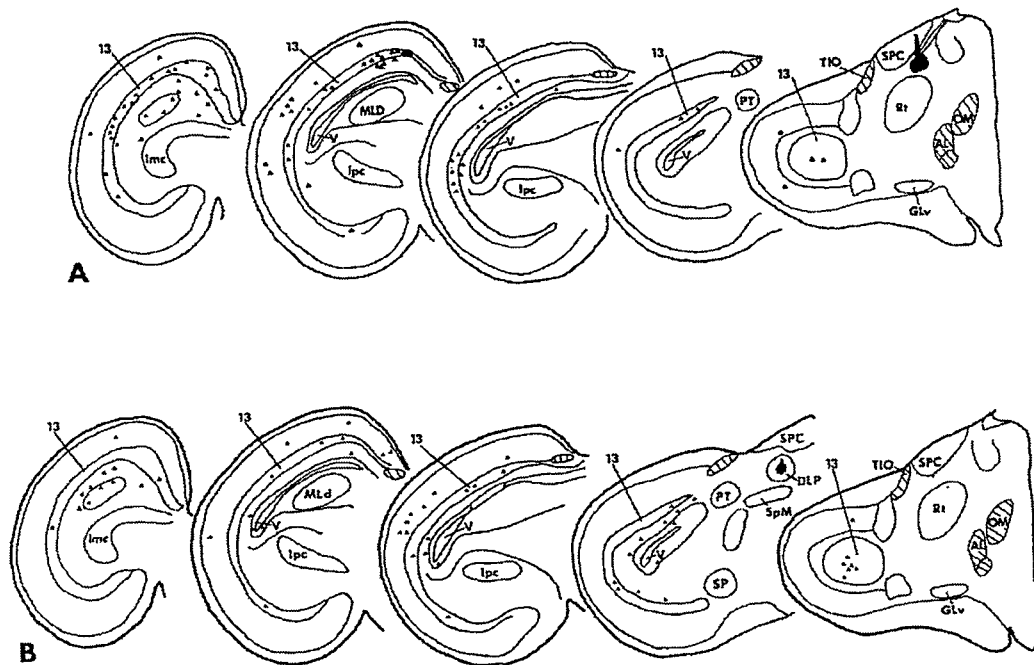


Figura 53. Serie de dibujos rostrocaudales (rostral hacia la derecha) mostrando la distribución de los cuerpos celulares en el tectum luego de inyecciones iontoforéticas de HRP en Dlp caudal (A) y caudal (B). Note que Dlp caudal es adyacente al núcleo Rt; y que las células se ubican en varias capas del tectum, sin embargo se distribuyen principalmente en la parte dorsal de éste (tomado de Gamlin & Cohen, 1986).

Sus inyecciones aunque pequeñas no lograron determinar si existe algún tipo de topografía en la proyección desde el tectum. En el mismo trabajo los autores realizaron lesiones en Dlp caudal que resultaron en un patrón de degeneración anterógrada en una región nidopallial adyacente al entopallio. Esta fue la primera vez que se describió una segunda vía tectofugal al telencéfalo palial en aves.

Nosotros realizamos experimentos de inyecciones de DiI en su forma sólida cristalina en Dlp caudal con la intención de confirmar los resultados de Gamlin & Cohen (1986) con métodos modernos y evaluar la posibilidad de un arreglo topográfico en la

proyección. Estas inyecciones produjeron resultados similares a los obtenidos por Gamlin & Cohen (1986): las células retrógradamente marcadas se ubicaron en varias capas del tectum ipsilateral (figura 51) con mayor proporción en la región dorsal del tectum. Sin embargo debido al tamaño reducido de Dlp nos fue imposible determinar algún tipo de relación topográfica entre estas estructuras. Luego realizamos inyecciones de DiI en la región adyacente al entopallio para verificar que el área de proyección de Dlp en el nidopallio (figura 52). Nuestros resultados confirman lo descrito por Gamlin & Cohen (1986). Las células retrógradamente marcadas, resultantes de la inyección en la figura 49 se distribuyen sobre toda el área de la región caudal del núcleo (figura 49). No se observó ninguna célula retrógradamente marcada en el núcleo rotundus, lo que sugiere que no hay superposición de las áreas de proyección en el nidopallio de Dlp y el núcleo rotundus. Dado que el área recipiente de Dlp en el nidopallio es reducida, el tamaño de los cristales no es suficientemente pequeño para determinar un arreglo topográfico en la proyección. Nosotros revisamos y confirmamos por primera vez que existe una segunda vía del tectum al telencéfalo palial ipsilateral por medio de un núcleo del tálamo dorsal. Las aferencias exclusivamente ipsilaterales desde el tectum y sus eferencias al telencéfalo palial hacen de Dlp un posible homólogo estructural con la división rostral del pulvinar en ardillas y musarañas arborícolas.

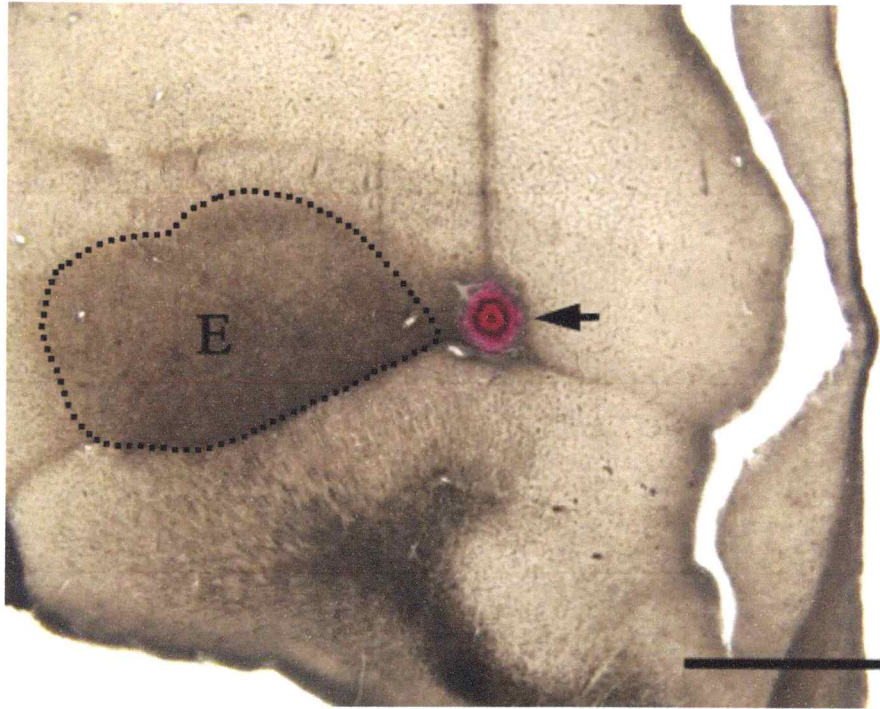


Figura 54. Inyección en la zona telencefálica recipiente de Dlp caudal. Corte transversal a nivel del E que muestra una Inyección de un cristal de DiI en la región recipiente de Dlp. Note que el área recipiente de Dlp es medial y adyacente al E. La barra de calibración corresponde a 500 μm .

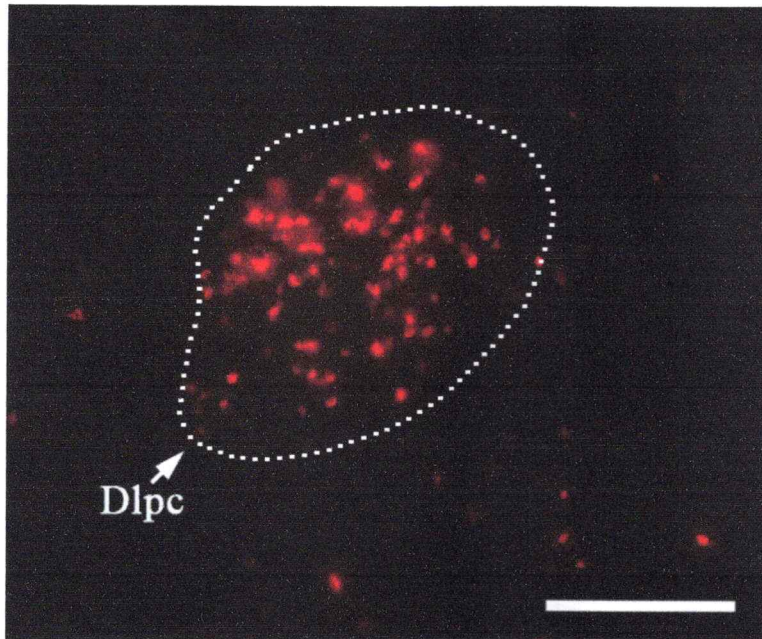


Figura 55. Células retrógradamente marcadas en Dlp. Cuerpos celulares en Dlp caudal marcados retrógradamente luego de la inyección de DiI de la figura anterior. Barra de calibración corresponde a 500 μm .

6.1.6 Propiedades funcionales de la vía tectofugal en aves

6.1.7 Vías paralelas en la proyección tectofugal

Diferentes clases de células ganglionares retinales terminan de manera espacialmente segregada dentro de las capas 2-7 del tectum óptico (Yamagata & Sanes, 1995; Karten et al., 1997). Investigaciones ultraestructurales han mostrado que estas laminas retinorecipientes reciben al menos cinco tipos de terminales diferentes que probablemente están asociados a diferentes clases de ganglionares retinales (Reperant & Angaut, 1977). La capa 5b específicamente, esta asociada a un tipo morfológico especial de terminales retinales, los que probablemente corresponden un tipo especial de ganglionares de cuerpos celulares pequeños denominada “w” (Mpodozis et al., 1995).

Luksch et al. (1998) describieron dos tipos celulares cuyos somas se localizan en la

capa 13 o SGS del tectum óptico llamadas TGC's del tipo I y tipo II. La característica más dramática de las neuronas encontradas por dichos autores para estas células es la gran extensión de sus árboles dendríticos. Este árbol consiste en muchas ramas dendritas lisas dirigidas oblicuamente hacia la superficie tectal terminando en especializaciones llamadas "bottlebrush dendritic endings" (BDE's) que se localizan exclusivamente en una capa del tectum. Para el caso de las células del tipo I, sus BDE's terminan específicamente en la capa 5b colocalizando con los terminales de las ganglionares retinales del tipo w (Luksch et al. 1998).

Datos fisiológicos y de comportamiento sugieren la existencia de áreas segregadas en el núcleo Rt que responden a distintas propiedades de un estímulo visual tales como color, luminancia y movimiento que corresponden con sus subdivisiones anatómicas (Wang et al., 1993). Debido a que esta es la primera estructura en la que se exhiben estas propiedades dentro de la vía, es muy probable que se establezca por un arreglo de vías segregadas en la proyección desde el tectum. Varios estudios han mostrado una segregación anatómica en la proyección al Rt de los varios tipos de SGCs tectales. Así, los dos tipos de SGCs que exhiben ramificaciones dendríticas dentro de diferentes laminas retinorecipientes, probablemente se conectan mono (tipo I) y polisinápticamente (tipo II) con diferentes tipos de células ganglionares retinales con propiedades fisiológicas específicas respondiendo a diferentes aspectos de los estímulos visuales.

Así, es concebible que los patrones de proyección a las diferentes subdivisiones del núcleo Rt de estos grupos celulares son la base morfológica para las diferentes

propiedades intrarotundas mostrados en estudios de comportamiento (Lavergetta & Shimizu, 1999) y electrofisiológicos (Granda & Yazulla, 1971; Jassik-Gerschenfeld & Guichard, 1972; Frost & DiFranco, 1976; Revzin, 1979; Wang & Frost, 1992; Wang et al., 1993).

Nuestros resultados confirman una topografía zonal en que cada subdivisión en el Rt proyecta a una zona específica en el E; y que dentro de cada subdivisión y su respectiva zona entopialial existe una topografía "punto a punto". En luz de la segregación anatómica y funcional de la vía tectofugal, que probablemente nace en la proyección de la retina al tectum óptico; es posible especular que las diferentes zonas en el E mantienen esta segregación funcional, además siendo cada zona un espejo de la actividad de las neuronas fugales (aunque no se ha demostrado la existencia de interneuronas). Estudios de lesiones hechos por Nguyen et al. (2004) apoyan esta hipótesis. Sus resultados muestran que palomas entrenadas para responder a tareas involucradas con percepción del movimiento, luego de lesiones en el E caudal disminuyen significativamente su capacidad de discriminación; por otro lado palomas entrenadas para discriminar forma, luego de una lesión que involucra el E anterior, disminuyen significativamente su poder de discriminación. Esto es consistente con la topografía zonal, dado que Wang et al. (1993) encontraron que las células de el Rt anterior respondían principalmente a color y luminancia, mientras que las células del Rt posterior respondían principalmente a movimiento.

6.1.8 Conclusiones

En conjunto estos resultados nos permiten concluir que:

- A. la proyección rotundo entopial se organiza de forma zonal, estas zonas en el E se evidencian por densidad diferencial de terminales rotundales y se caracterizan por estar organizadas rostro caudalmente y recibir cada una exclusivamente de una sola subdivisión rotundal.
- B. Esta proyección dentro de cada subdivisión se organiza de forma topográfica “punto a punto”.
- C. La topografía en la proyección es directa.

La división triagularis del núcleo rotundus parece no cumplir con un arreglo topográfico en la proyección al E debido a que comúnmente se observaron células en esta subdivisión independiente de la zona o locus dentro de ellas donde se haya posicionado el cristal de trazador, coincidiendo con estudios previos (Ktrutzfeldt & Wild, 2004; Laverguetta & Shimizu, 2003). No podemos realizar conclusiones respecto a la proyección de la división Tr debido que no realizamos inyecciones de BDA en esta subdivisión y por lo tanto no sabemos cual es el la zona entopial recipiente de ella.

6.2 Anatomía de la vía tectofugal de mamíferos

6.2.1 Morfología de las células que proyectan al pulvinar caudal

En aves las células del SGC poseen campos dendríticos grandes, terminaciones dendríticas en cepillo (Ramon y Cajal, 1911; Hunt & Kunzle, 1976a; Luksch et al., 1998) y proyectan bilateralmente al núcleo rotundus (Benowitz & Karten, 1976; Hunt & Kunzle, 1976a; Mpodozis et al., 1996; Karten et al., 1997; Luksch et al., 1998). Se ha demostrado la existencia de al menos 2 tipos celulares rotundo proyectantes en el SGC de aves, a saber: el tipo I, que se caracteriza por la ubicación de sus somas en la sublamina externa del SGC y por la localización de sus terminaciones dendríticas en la capa 5b, el tipo II en tanto, cuyos somas se ubican en la sublamina interna del SGC y sus terminaciones dendríticas se localizan en capas más internas no superando la capa 8 (Karten et al., 1997; Luksch et al., 1998).

En mamíferos, específicamente en la ardilla, se han descrito dos tipos de células en el SGS3 del colículo superior, que muestran campos dendríticos grandes y con especializaciones dendríticas en cepillo. Las células del tipo I se caracterizan por tener sus somas restringidos al SGS3 y sus terminaciones dendríticas localizadas en la capa más superficial del SGS1. Las células tipo II en cambio tienen sus somas ubicados en la porción inferior del SGS3 y la sublamina externa del SO, y sus especializaciones dendríticas se localizan en las capas intermedias del SGS (Major et al., 2000)

Además de estas similitudes morfológicas a nivel celular, las laminas de terminación dendrítica de las células tipo I en aves tanto como en mamíferos reciben aferencias

colinérgicas desde núcleos homólogos del mesencéfalo, a saber: el núcleo parabigeminado en mamíferos, y el núcleo istmo parvocelularis en no mamíferos (Woodson et al., 1991), estas mismas laminas reciben aferencias desde células ganglionares pequeñas de la retina contralateral en aves (Karten et al., 1997) y mamíferos (Rivera & Lugo, 1998). Esta comparación anatómica sugiere fuertemente que los tipos celulares I y II descritos en aves y mamíferos son homólogos, y que muy probablemente participan en procesos fisiológicos similares.

6.2.2 Las aferencias del CS al Pulc provienen exclusivamente de las células descritas por Mayor et al. (2000)

Nosotros mostramos sólo dos divisiones del pulvinar reciben aferencias desde el colículo superior. La división caudal recibe una proyección bilateral de las células ubicadas en la capa SGS3 y la porción superior del SO. Estas células emiten dendritas primarias que se proyectan oblicuamente hacia la superficie tectal. Esto sugiere una morfología muy similar a las células en el SGC del tipo I y del tipo II descritas por Mayor et al. (2000). Otro argumento a favor de que estas células son la fuente de proyecciones al Pulc, es la banda de marca encontrada en el SGS1 bilateralmente. Nosotros proponemos que esta banda corresponde a las terminaciones dendríticas en cepillo (BDEs) de las células del tipo I ubicadas en la capa SGS3, debido a que los BDEs de las neuronas del tipo I descritas por Mayor et al. (2000) se ubican exactamente en la capa SGS1. Además los BDEs de las células equivalentes en la capa 13 del tectum óptico de aves descritas por Luksch et al. (1998) se ubican específicamente en la capa

5b. Luego de una inyección de CTB en la división Ce del núcleo Rt se marcan retrógradamente los cuerpos de las células en la capa 13 y además se produce una banda de marcaje en la capa 5b evidenciando la presencia de los BDEs (Mpodozis et al., 1996; Karten et al., 1997; Marín et al., 2003). Estos datos sugieren fuertemente que las células marcadas retrógradamente en nuestros experimentos de inyecciones de CTb en el Pulc corresponden a las neuronas del tipo I de Major et al. (2000) y la banda de marcaje en la capa SGS1 corresponde a los BDEs de estas células. La mayoría de los cuerpos celulares que obtuvimos en nuestras inyecciones de CTb en diversas áreas del Pulc resultaron en una población de células retrógradamente marcadas principalmente en el SGS3, y solamente una población residual que tenía sus somas en el SO las cuales posiblemente correspondan al tipo II de Major et al. (2000) debido a su posición. Sin embargo no nos fue posible determinar si existe una segregación en la proyección de los tipos celulares I y II que evidenciara algún tipo de subdivisión en Pulc, tal como existe en la paloma (Karten et al., 1997).

Datos comparativos en otros mamíferos sugieren que las distintas divisiones del complejo LP/Pul pueden recibir de distintos tipos celulares del CS. En el gato, poblaciones separadas de neuronas en el SGS3 proyectan a la subdivisión medial del LP y al borde lateral de LP, mientras que células en el SO proyectan al LP ventral (Abramson & Chalupa, 1988). La posición laminar de estas neuronas eferentes corresponden a la posición laminar de las neuronas tipo I y tipo II, respectivamente. Con estos antecedentes podemos especular que los tipos celulares I y II del SC podrían

proyectar segregadamente a subdivisiones anatómicas distintas del Pulc en la ardilla. Serán necesarios estudios de inyecciones de localizadas dentro del pulvinar caudal para poner a prueba esta hipótesis.

Nuestros experimentos demuestran que las células proyectantes al pulvinar caudal están localizadas en el SGS3 y la porción dorsal del SO. No podemos descartar la posibilidad de que otras poblaciones de células con la misma localización laminar sean la fuente de proyecciones a otros blancos en el cerebro. Mayor et al. (2000) sugieren que sus células podrían contribuir a la proyección colículo pretectal. En el gato, Kubota et al. (1989) encontraron que las células en el SGS3 y la porción dorsal del SO proyectan topográficamente al núcleo del tracto óptico y al núcleo pretectal posterior. Lugo-Garcia & Kicliter (1987) demostraron una proyección desde el SGS a los núcleos pretectales anterior y posterior en la ardilla. Estudios de trazado anterógrado en el gato (Graham, 1977; Behan & Appell, 1992) y en primates (Benevento & Fallon, 1975) son consistentes con estos datos. En este estudio no encontramos indicios de proyecciones otras que al núcleo pulvinar caudal.

Nuestras inyecciones en las capas superficiales del SC generan marca retrograda y anterógrada en el núcleo parabigeminal. Las células del SGS3 probablemente no proyectan al núcleo parabigeminal. Las células proyectantes al núcleo parabigeminal son más numerosas en las subcapas superiores del SGS (Lugo-Garcia & Kicliter, 1987). Además, estudios de la morfología de las células proyectantes al o cerca del núcleo parabigeminal, no tienen la morfología vertical y de árboles dendríticos grandes (mono

ardilla: Moschovakis et al., 1988).

Nuestras inyecciones en las capas superficiales del CS también producen un marcaje anterógrado en el núcleo geniculado dorsal lateral y geniculado ventral lateral. Las proyecciones hacia el primero han sido atribuidas a células con campos dendríticos estrechos en las capas superficiales del SGS (ardillas: Robson & Hall, 1976; Lugo-García & Kicliter, 1987; musaraña arborícola: Albano et al., 1979; gato: Kawamura et al., 1980; Kubota et al., 1989; conejo: Graham & Berman, 1981; macaco: Benevento & Standage, 1983). Las proyecciones al núcleo geniculado ventral lateral han sido atribuidas a células de campos dendríticos estrechos en las capas superficiales del SGS (galago: Raczkowski & Diamond, 1978; musaraña arborícola: Albano et al., 1979) o en todo el SGS (gato: Harrell et al., 1982; ardilla: Lugo-García & Kicliter, 1987). Ni la posición laminar ni la morfología de las células descritas por Mayor et al. (2000) y las de este estudio son consistentes con una proyección a estos núcleos.

6.2.3 Aferencias segregadas del CS al pulvinar

Al menos dos componentes de la proyección tectopulvinar son reconocidos en otros mamíferos, pero hasta ahora era desconocido si estos se originan de poblaciones distintas en el SC. En el macaco, la división caudal del pulvinar inferior recibe aferencias bilaterales desde el SGS3 y la porción superior de SO (Trojanowski & Jacobson, 1975; Benevento & Rezak, 1976). Esta proyección es similar a las aferencias al Pulvinar caudal de la ardilla (Robson & Hall, 1977; Lugo-García & Kicliter, 1987; y

este estudio) y otros mamíferos (degu: Kuljis & Fernandez, 1982; musaraña arborícola: Luppino et al., 1988). Las células en el SGS3 y la porción dorsal del SO también proyectan ipsilateralmente al pulvinar inferior de primates (Trojanowski & Jacobson, 1975; Benevento & Standage, 1983; Huerta & Harting, 1983; Diamond et al., 1992).

De manera similar, varios estudios sostienen que el pulvinar rostrolateral de la ardilla (Robson & Hall, 1977; Lugo-Garcia & Kicliter, 1987) y otros mamíferos (tree shrew: Albano et al., 1979; Luppino et al., 1988; conejo: Graham & Berman, 1981; rata: Donnelly et al., 1983) recibe aferencias ipsilaterales desde el SGS3 y la porción dorsal de SO.

Robson & Hall (1977) describieron las proyecciones desde el SC al complejo pulvinar en la ardilla y en base a sus resultados definieron 3 subdivisiones. La división caudal recipiente de la capa SGS3 del SC bilateralmente (división que ahora nosotros identificamos como equivalente al núcleo rotundus en aves); la división rostral recipiente de la capa SGS3 ipsilateralmente y una división rostro medial que no recibe ninguna proyección del SC.

Al respecto, nuestras inyecciones en el pulvinar rostral muestran que este núcleo recibe de una población celular diferente que el Pulc, específicamente desde células ubicadas en la porción ventral de SO y restringidas al colículo superior ipsilateral. Estas células extienden procesos dendríticos hacia la superficie tectal terminando no más allá del SGS3. Esta aparente colocación de los terminales dendríticos de estas células, con los somas de aquellas proyectantes al pulvinar caudal en el SGS3, podría significar una

conexión sináptica directa entre ellas, y por lo tanto una influencia de las respuestas del pulvinar caudal sobre las del pulvinar rostral. La significancia fisiológica y funcional de esta posibilidad deberá clarificarse en estudios posteriores.

Esta segregación en la proyección a las divisiones del pulvinar es muy probable que refleje propiedades fisiológicas distintas y en ultimo termino funciones diferentes de las divisiones del pulvinar.

6.2.4 Topografía de la proyección colo pulvinar

Marín et al. (2003) describieron la topografía interdigitada en la proyección tectorotundal en la paloma. Sabiendo que inyecciones pequeñas en el SC generan una marca anterógrada que abarca toda la extensión del núcleo Rt bilateralmente irrespectivo de la localización de la inyección, ellos realizaron pequeñas inyecciones de trazadores fluorescentes en su forma cristalina en el núcleo Rt, que resultan en la marca retrograda de cuerpos celulares ubicados en la capa 13 y en toda la superficie tectal, sin importar la ubicación del cristal en el Rt. Luego llevaron a cabo inyecciones dobles de trazadores diferentes en una división del núcleo Rt, las que resultan en el marcaje de poblaciones celulares interdigitadas en la capa 13 del tectum óptico. Nuestras inyecciones en el SC muestran un patrón de marca similar, a saber, las fibras tectales abarcan bilateralmente todo el Pulvinar irrespectivo de la localización de la inyección en el tectum. Aunque no nos fue posible realizar inyecciones pequeñas en el Pulc, algunas de nuestras inyecciones afectaron solo parcialmente al núcleo; en estos casos las células marcadas

comprometen toda la superficie tectal.

Estas características en la proyección nos llevan a proponer que el sistema a este nivel se organiza de forma similar al de aves, es decir la proyección se caracteriza por una topografía interdigitada donde el mapa espacial retino tectal se pierde totalmente en la proyección al núcleo Pulc y en cada punto del Pulc esta representado todo el campo visual. Evidencia en para esta hipótesis en otros mamíferos viene del trabajo de Luppino et al. (1988) quienes realizaron inyecciones pequeñas en el SC de la musaraña arborícola (*Tupaia*) y definieron dos tipos de proyecciones al complejo pulvinar de acuerdo al patrón de marca: una específica o topográfica a la división rostral del Pul y una difusa o no topográfica a la división caudal del Pul. En la proyección difusa la marca abarca toda la subdivisión caudal del pulvinar bilateralmente, sin importar la localización del sitio de inyección en el SC. Según estos resultados, es posible pensar que otros mamíferos ,incluso primates, hayan conservado esta organización topográfica en el sistema retino-coliculo-pulvinar.

6.2.5 Vías colofugales paralelas: conectividad del pulvinar con la corteza

En este estudio mostramos que el pulvinar rostral recibe una proyección de células ubicadas en la lamina SO del colículo superior, mientras que el pulvinar caudal recibe de células ubicadas principalmente en la lamina SGS3. Nuestros resultados muestran que esta segregación se conserva en la conectividad de estos núcleos con la corteza. En este

estudio hemos mostrado que el pulvinar rostral se conecta recíprocamente con el área 19-Tm; mientras que el pulvinar caudal se conecta recíprocamente con el área Tp. Es muy posible que esta segregación en la proyección refleje propiedades fisiológicas separadas en estos canales, conservada hasta el nivel cortical.

Aunque nunca logramos inyecciones restringidas a un área particular dentro de la corteza Tp, los cuerpos celulares retrógradamente marcados en el Pulc varían su distribución entre diferentes inyecciones. Esto puede ser explicado por la localización de los sitios de inyección en la corteza. Aunque aparentemente las inyecciones en el área Tp comprenden la misma región, la copia callosal en Tp contralateral varía en las diferentes inyecciones. Esto podría deberse a que la mayor densidad de trazador en el sitio de inyección es un punto bastante circunscrito. Así, este punto de densidad mayor y no la difusión del trazador al resto del área Tp, es el principal foco de absorción para el transporte retrogrado, lo que se ve reflejado en los cuerpos celulares marcados en Tp contralateral y en el Pulc. De esta manera nosotros interpretamos la copia callosal como el punto de mayor densidad de la inyección y por lo tanto como el punto de origen para el transporte retrogrado en el Pulc también; esto nos permite decir que la localización de la inyección dentro de Tp esta relacionada a la distribución de los cuerpos celulares en el Pulc, lo que sugiere una topografía gruesa en la proyección. Un estudio con inyecciones más pequeñas o cristalinas podría revelar una topografía fina en esta proyección que no es evidente con nuestro tipo de inyecciones.

Nuestros resultados respecto a la conectividad del área 19 y Tm con el pulvinar rostral

en cambio, no sugieren una organización topográfica en la proyección.

6.2.6 Diferencias con otros estudios

Estudios anteriores en ardillas difieren con algunos de nuestros resultados. Robson & Hall (1977) en un estudio realizado con la técnica de degeneración axonal proponen 3 divisiones para el pulvinar, a saber, una división caudal, otra rostro medial y una rostro lateral. La división caudal corresponde perfectamente con nuestra división caudal en términos de la fuente de proyecciones desde el colículo superior y conectividad con la corteza Tp. Las otras dos divisiones propuestas por Robson & Hall (1977) sin embargo, discrepan en varios puntos con nuestros resultados. Primero, nuestros resultados de inyecciones en las capas superficiales en el SC lateral muestran que la marca anterógrada sobre el pulvinar rostral coincide precisamente con parte de la división rostro medial del pulvinar propuesta por Robson & Hall (1977), la que ellos argumentan no recibe aferencias tectales. Estas discrepancias pueden deberse a que dichos autores realizaron inyecciones que no abarcaran el área lateral del SC que en nuestros resultados generan la marca anterógrada en el Pulr; otra posibilidad es que las diferentes métodos utilizados (degeneración axonal versus CTb) generen patrones de marcaje diferentes.

Robson & Hall (1977) proponen que la división rostro medial recibe aferencias desde el área 17, 18 y 19, y la división rostro lateral no recibe ninguna aferencia cortical. La división rostro medial solo proyectaría al área 19 en cambio la división rostro lateral al área 18.

Nuestras inyecciones de CTb en el pulvinar rostral abarcan las dos divisiones propuestas por Robson & Hall (1977) (rostro lateral y rostro medial); la marca retrograda y anterógrada resultante en la corteza involucra las áreas 19 y Tm, las que se ubican ventrales a las áreas 18 y 17. Las inyecciones de BDA en el Pulv que abarcan sólo la división rostro medial de Robson & Hall (1977), confirman sus referencias a la corteza cuyos terminales se restringen al área cortical 19.

Nuestros resultados, por lo tanto, no apoyan las divisiones propuestas para la región rostral del pulvinar por Robson & Hall (1977). Por otra parte, los estudios hechos por Luppino et al. (1988) en *Tupaia*, si son consistentes con nuestros resultados. Estos autores, por medio de inyecciones de WGA-HRP en el SC evidencian sólo dos patrones de terminación en el Pulvinar; también muestran que inyecciones en el área 19 generan un marcaje que comprende toda la zona rostral del pulvinar. Finalmente, podemos decir que los nuestros resultados de inyecciones corticales e inyecciones en el pulvinar rostral y los de Luppino et al (1988) muestran claramente que la división rostral del pulvinar se comporta como una sola estructura en términos de conectividad con el SC y con la corteza.

6.2.7 Comparación con la vía colopulvinar en primates

¿Existen áreas en el pulvinar de primates que compartan las mismas características que el pulvinar de no primates? Resolver esta pregunta es una tarea que confronta algunas dificultades. La primera es que sólo partes del pulvinar han sido caracterizadas en

términos de sus patrones de conexión aferentes y eferentes. Un segundo problema se origina en el hecho que los rasgos morfológicos de esta región en el tálamo varían tremendamente entre especies. En gatos y monos, por ejemplo, el complejo pulvinar está mucho más desarrollado comparado con el de la ardilla. Sin embargo hemos visto que las proyecciones del colículo superior a las divisiones del pulvinar son un rasgo conservado entre especies filogenéticamente muy distantes como palomas, lagartijas y ardillas, y que dicha conservación llega a nivel de morfología celular, por lo tanto es posible pensar que existe un grado importante de conservación entre mamíferos.

En primates específicamente, existe una división del pulvinar que parece corresponder con el pulvinar de mamíferos no primates; a saber, el pulvinar inferior. Tradicionalmente el complejo pulvinar del tálamo dorsal de primates ha sido dividido en inferior, lateral, medial y a veces una división anterior (Lin & Kaas, 1979). Desde la aparición de las técnicas de degeneración anterógrada es sabido que el pulvinar inferior en primates recibe proyecciones desde las capas superficiales del colículo superior (Benevento & Fallon, 1975). Mathers (1971) reportó que las proyecciones del SC estaban distribuidas heterogéneamente en el pulvinar inferior con una concentración de terminales en la región medio posterior distinguida como el núcleo posterior. Luego, Lin et al. (1974) encontraron que las inyecciones de el trazador HRP en el área cortical medial temporal (MT) marcaron la misma división posterior del pulvinar inferior descrita por Mathers (1971). En estudios subsecuentes, Lin & Kaas (1979, 1980) confirmaron que el núcleo posterior del pulvinar inferior (el cual ellos marcaron como Ipp), correspondía al núcleo

posterior de Mathers (1971) y describieron además un núcleo central (IPc) que recibía aferencias desde el SC. Un tercer núcleo medial fue descrito por estos autores como carente de proyecciones del SC.

En un estudio más moderno, Stepniewska et al. (1999) realizaron inyecciones de WGA-HRP en el SC en monos buho, simultáneamente con inyecciones de Fast Blue en MT. Ellos encontraron que las inyecciones de Fast Blue en MT marcaron neuronas ubicadas principalmente en la división medial del pulvinar inferior (PI_m), unas pocas células fueron encontradas en el núcleo adyacente centro medial del pulvinar inferior (PI_{cm}) y en el geniculado dorsal lateral (Gld). Las inyecciones en el colículo superior revelaron un transporte anterógrado muy denso en los núcleos PI_{cm} y PI_p. Estos resultados indican que el PI_m, fuente principal de aferencias desde el pulvinar inferior al área MT no recibe una proyección sustancial del SC.

Por otro lado MT es parte de una constelación de otras áreas visuales adyacentes. MT recibe aferencias directas de V1 (Rosa & Krubitzer, 1999) y desde un grupo de módulos en V2 dominados por la vía magnocelular proveniente desde la retina (Kaas et al., 1976), además MT está fuertemente interconectado con una serie de pequeñas áreas adyacentes como el área medial superior temporal (MST), el fundus del sulco temporal superior (FST) y el creciente de MT (MT_c) (Krubitzer & Kaas, 1990). Ésta última es una estrecha banda que rodea a MT. Todas estas áreas circundantes a MT (FST, MST y MT_c) sin embargo reciben innervación directa desde las divisiones PI_p y PI_{cm} del pulvinar inferior las cuales son recipientes a su vez de las capas superficiales del SC (Boussaoud

et al., 1992).

Nosotros mostramos que en la ardilla dos divisiones del pulvinar, Pulc y Pulr reciben proyecciones del colículo superior; el núcleo Pulr recibe una proyección ipsilateral de células ubicadas en el *stratum opticum* (SO), mientras que el Pulc recibe una proyección bilateral desde células ubicadas en la subcapa 3 del *stratum griseum superficiale* (SGS3). Nuestras inyecciones en la corteza y el pulvinar demuestran que el área 19 está recíprocamente conectada con el Pulr y que el área Tp está recíprocamente conectada con el Pulr. Además, nuestras inyecciones en Tp producen un marcaje retrogrado y anterógrado en la división dorsal del geniculado medial (MGd). Según estos resultados y otros similares mostrados en el prosimio *Tupaia glis* (Luppino et al., 1988) nosotros argumentamos una posible homología entre el complejo pulvinar de mamíferos no primates y la división inferior del complejo pulvinar en primates, considerando las similitudes en conectividad. Según esta proposición el Pulr y el Pulc son comparables a las divisiones caudal (PIp) y centro medial (PIcm) del pulvinar inferior de primates utilizando como argumento principal que estos núcleos son los que reciben la mayor densidad de terminales desde el colículo superior (Lin & Kaas, 1979; Stepniewska et al., 1999). Sin embargo estos estudios se basan exclusivamente en el transporte anterógrado desde el colículo superior; hasta ahora existe solo un estudio de inyecciones de HRP en el pulvinar de primates (Trojanowsky & Jacobson, 1975; Rhesus) sin embargo los autores consideran al pulvinar inferior como una sola estructura, por lo que la localización laminar precisa de las células en el SC que proyectan a las diferentes

divisiones del pulvinar inferior es desconocida. Esto dificulta la tarea de comparación, ya que como hemos demostrado en este estudio, hay una segregación laminar de las poblaciones de células en el SC proyectantes a los núcleos caudal y rostral del pulvinar. La disponibilidad de estos datos en primates nos permitiría hipotetizar la correspondencia entre los núcleos del pulvinar en la ardilla y los subnúcleos en primates.

Nosotros demostramos que los núcleos caudal y rostral en el pulvinar de la ardilla reciben de poblaciones celulares segregadas en el colículo superior, además mostramos que la proyección cólica al Pulr es ipsilateral, mientras que la proyección cólica al Pulc es bilateral; este rasgo es muy relevante desde que es conservado en la vía tectofugal en aves y reptiles, caracterizando la proyección tectofugal. En *Tupaia* se ha demostrado también que la división caudal del pulvinar recibe una proyección bilateral de las capas superficiales del SC (Luppino et al., 1988). Es interesante destacar el hecho de que los autores consideran esta característica de la proyección casi anecdótica, desde que el descubrimiento no se menciona en los resultados del artículo, sino como un comentario muy breve en la discusión; esto denota la poca importancia que se le ha entregado a este hecho en la literatura de mamíferos y en especial de primates. Varios estudios de inyecciones o lesiones en el colículo superior han sido llevados a cabo en primates (Mathers, 1971; Harting et al., 1972, 1980; Benevento & Fallon, 1975; Berson & Graybiel 1991; Huerta & Harting, 1983b) sin embargo en ninguno de ellos se menciona la lateralidad de la proyección al pulvinar, asumiendo tácitamente una proyección exclusivamente ipsilateral. El trabajo mencionado anteriormente de inyecciones en el

pulvinar de monos rhesus (Trojanowsky & Jacobson, 1975) describe que solamente las inyecciones en el pulvinar inferior producen una marca retrograda en el SGS del colículo superior bilateralmente con una población mayor en el lado ipsilateral, resultado muy similar a los obtenidos luego de nuestras inyecciones en el Pulc de la ardilla.

Según estos datos nosotros hipotetizamos que una de las divisiones del pulvinar inferior recipiente bilateralmente desde el SC y proyectantes a las cortezas adyacentes a MT (FST, MST) es equivalente a la división caudal del pulvinar de mamíferos no primates.

Aunque se considera que los roedores no poseen un homólogo a MT (Rosa, 1999) datos electrofisiológicos muestran que el área TP en la ardilla muestran respuestas al movimiento y células selectivas a la dirección del movimiento muy similares a las encontradas en MT (Serenio M., datos no publicados); según esto es posible pensar que el área Tp (o parte de ella) en ardillas sea homóloga al área MT de primates. En primates, existe una división medial en el pulvinar inferior que carece de proyecciones desde el SC y que proyecta al área MT. Nuestros datos muestran que la división dorsal del geniculado medial no recibe proyecciones desde el SC y que además, está recíprocamente conectado con el área TP. Un estudio reciente muestra que inyecciones en las divisiones corticales relacionadas con la audición adyacentes a TP en la ardilla, marcan varios subnúcleos pertenecientes al complejo geniculado medial, como es de esperar. Sin embargo la división dorsal, no exhibe ningún tipo de conectividad con la corteza auditiva (Wong et al., 2008). Según estos datos es posible pensar que esta

división dorsal del geniculado medial, es en realidad parte del complejo pulvinar, debido a que primero, se ubica directamente ventral al pulvinar caudal y segundo, esta directamente conectada con el área TP y no con la corteza auditiva. Siguiendo este razonamiento, esta división podría corresponder a la división medial del pulvinar inferior en primates dada su carencia de aferencias desde el colículo superior. Esto implicaría que existe un área equivalente a MT en la ardilla, al menos en términos de conectividad con el complejo pulvinar. Ahora bien, ésta área MT putativa podría ser un parche circunscrito dentro de lo que nosotros llamamos TP y que debido a que nuestras inyecciones no son lo suficientemente pequeñas para separar las áreas de conexión diferenciales con las distintas subdivisiones del pulvinar, por lo que se distinguen como una sola estructura. Otra posibilidad es que las áreas estén fusionadas y sean efectivamente una misma estructura, el que sería un escenario evolutivo ancestral a lo que sucede en primates, donde ha ocurrido una separación y multiplicación de estas áreas en la corteza, pero manteniendo su conectividad con el complejo pulvinar. Sin embargo serán necesarios estudios más detallados de la conectividad de los diversos núcleos del pulvinar y la corteza extraestriada para poner a prueba estas hipótesis.

6.3 Detección del movimiento en la vía colopulvinar de mamíferos

La evidencia anatómica para la homología de los grupos celulares involucrados en la vía tectopulvinar y tectofugal, lleva a preguntarse las similitudes funcionales entre ellas.

Las características fisiológicas y morfológicas reportadas por varios estudios sugieren

que las células encontradas en el SGS3 y SO son parte de una vía relacionada con la detección de movimiento tal como las células del SGC en aves.

Las células ganglionares proveen de una proyección sustancial a las capas superficiales del colículo superior. Rivera & Lugo (1998) describieron las células ganglionares proyectantes al SC de la ardilla de trece líneas por medio de inyecciones de CTb en el colículo superior. Ellos encontraron que el 78% de las células proyectantes al SC lo constituían ganglionares pequeñas (6-10 μm de diámetro del soma), 21% células de tamaño medio (11-14 μm), y solo el 1% fueron grandes (>14 μm); Fukuda (1977) y Thanos (1988) sugieren que estos tipos celulares corresponden a los tipos fisiológicos W, X y Y. Estos datos son consistentes con lo encontrado en aves, donde la mayor proporción de células ganglionares que proyectan al tectum óptico corresponden a células pequeñas (4.5-6 μm de diámetro) (Karten et al. 1997). Si asumimos que las células Y corresponden al componente magno celular que ha sido relacionado con la detección de movimiento en primates, las respuestas a movimiento del colículo superior en la ardilla es independiente de esta vía, debido a que este tipo celular proyecta escasamente a esta estructura.

Los campos receptivos de las células encontradas en el SGS3 y el SO son circulares o elípticos, con diámetros en el rango de 10-30° entre especies (macaco: Schiller y Koerner, 1971; musaraña arborícola: Albano et al., 1978; conejo: Graham et al., 1982; ardilla: Major et al., 2000). Algunos reportes indican campos receptivos significativamente más grandes dependiendo de la excentricidad en el campo visual y

profundidad en el colículo (rata: Humphrey, 1968; macaco: Cynader & Berman, 1972). Estas células poseen una región activante central y periferia inhibitoria. Son activadas más eficientemente por estímulos pequeños, a menudo menos de 1° en diámetro, y son inhibidas por movimiento del fondo (rata: Humphrey, 1968; mono ardilla: Kadoya et al., 1971; macaco: Schiller & Koerner, 1971; Cynader & Berman, 1972; musaraña arborícola: Albano et al., 1978). Aproximadamente 60% de las células en el SGS3 y el SO son direccionales en el gato, pero la direccionalidad es menos común en el conejo (Graham et al., 1981) y muy rara en primates (Kayoda et al., 1971; Schiller & Koerner, 1971).

Estudios de la fisiología de las células del SGC en el tectum de aves, revelaron que estas neuronas poseen campos receptivos grandes y circulares con una región activante central y periferia inhibitoria (Frost & Difrancò, 1976), son activadas más eficientemente por estímulos pequeños (0.05 grados) e inhibidas por el movimiento de fondo (Jassik-Gerschenfeldt et al., 1970; Frost & Difrancò, 1976; Frost & Nakayama, 1983; Frost et al., 1988). Además, solo la mitad de estas células exhibe selectividad a la dirección del movimiento (Jassik-Gerschenfeldt & Guichard, 1972; Frost & Difrancò, 1976). Estos datos sugieren fuertemente que estos tipos celulares cumplen funciones similares en aves y mamíferos.

Las propiedades funcionales del tectum son probablemente originadas en la interacción de las aferencias con los circuitos tectales intrínsecos y las propiedades biofísicas únicas de las neuronas que comprenden dichos circuitos. En el gato, las neuronas tectales

pueden heredar la sintonización a la velocidad desde las aferencias retinales, mientras que la sintonización al tamaño y la direccionalidad pueden ser heredados de las aferencias corticales (Palmer & Rosenquist, 1974). En la ardilla, se ha sugerido que la sintonización direccional se origina en las aferencias retinales (Michael, 1972b). La interacción de las neuronas inhibitorias, tales como las neuronas horizontales en las capas superficiales del SGS, pueden también contribuir a la generación de muchas de estas propiedades funcionales (Langer & Lund, 1974). Sin embargo muchas propiedades pueden ser organizadas por las características morfológicas de las células individuales.

Mayor et al. (2000) especula que los BDEs pueden servir para integrar aferencias tectales específicas y entradas tectales intrínsecas de modo de generar las propiedades de los campos receptivos. Las características fisiológicas de las células del SGS3 podrían ser heredadas por las células recipientes en el Pulc y estas células a su vez moldear una respuesta al movimiento en el área Tp.

6.3.1 Propiedades de detección del movimiento en MT y su posible dependencia de la vía tectofugal

Hemos descrito que la anatomía de la vía colo-pulvinar en ardillas y primates es similar a la de la vía tectofugal en aves, y que esta última está involucrada activamente en la detección del movimiento. Discutiremos ahora, hasta que punto las similitudes estructurales pueden ser extrapoladas a la función de la vía colo-pulvinar, y cual es la relación entre esta vía y el área MT en primates.

Estudios fisiológicos han mostrado que una alta proporción de neuronas en MT son

altamente selectivas para la velocidad y dirección de un estímulo en movimiento (Albright, 1984; Felleman & Kaas, 1984; Lagae et al., 1989); como las neuronas en MT la mayoría de aquellas en MST y un tercio de neuronas en FST son selectivas para la dirección del movimiento. Además los campos receptivos en MST y FST son sustancialmente más grandes que aquellos en MT. (Desimone & Ungerleider, 1986; Tanaka et al., 1986).

Ródman et al. (1989) mostraron que luego de la destrucción de la corteza V1 las propiedades dirección selectiva al movimiento de las células de MT se conserva. La destrucción subsecuente del SC ipsilateral elimina la selectividad a la dirección presentada por estas células (Rodman et al., 1990). Así la habilidad de discriminar la dirección del movimiento recae no solo en la integridad de la corteza estriada sino también del SC.

Estudios en humanos muestran que pacientes hemisferectomizados por causas medicas tienen, debido a la ausencia de V1, el campo monocular contra lesional ciego. Además presentan el fenómeno conocido como "blindsight" que corresponde a habilidades visuales residuales en el campo ciego tales como detección de un estímulo por movimientos sacádicos, detección de la dirección del movimiento, discriminación de la velocidad relativa y cambios reflejos en la secreción de melatonina y dilatación pupilar (Ptito & Leh, 2007). Como los escotomas producidos por lesiones en V1 generan los mismos tipos de "blindsight" ellos proponen que dichas habilidades visuales residuales en el campo ciego se conservan gracias a que el colículo superior ipsilateral se conserva

intacto, hecho demostrado por autopsias practicadas en sujetos hemisferectomizados.

Schiller & Malpeli (1977) describieron que el SC en primates no recibe aferencias retinales de conos sensibles a longitudes de onda corta (conos 's') involucrados en visión de colores, a diferencia de las regiones retinorecipientes del pulvinar. En base a estos resultados Leh et al. (2006) trabajaron en pacientes humanos hemisferectomizados demostrando que el "blindsight" puede ser evidenciado y medido para estímulos acromáticos, pero sin embargo desaparece con estímulos idénticos pero con longitudes de onda que activan solamente los conos "s", sugiriendo que las aferencias retinales al colículo superior están involucradas en la generación de estas respuestas. Además, experimentos en monos muestran que aquellos individuos con lesiones que involucran toda el área correspondiente a V1 pueden localizar estímulos en el hemicampo ciego y llevar a cabo discriminación de longitud de onda y de forma y patrones simples, también como discriminación de velocidad (Rodman et al., 1989; Ptito et al., 1996). Estas habilidades son suprimidas luego de la destrucción del SC ipsilateral (Rodman et al., 1990). En monos infantiles hemisferectomizados que son capaces de detectar estímulos en el hemicampo ciego, estudios anatómicos e histoquímicos muestran degeneración retrograda transneuronal en muchas células ganglionares de la retina, una gran reducción en volumen del dLGN, pero solo una pequeña reducción en volumen del SC ipsilateral (Ptito et al., 1996).

Estos autores argumentan que las propiedades visuales residuales en humanos hemisferectomizados son mediadas por las proyecciones descendentes del colículo y su

conexiones ascendentes con la corteza extraestriada a través del colículo, específicamente la conectividad del colículo con MT mediante el pulvinar. Sin embargo para sostener esta hipótesis sería necesaria una proyección contralateral o bilateral desde el colículo al pulvinar. Esto debido a que las aferencias provenientes del pulvinar a la corteza son exclusivamente ipsilaterales, y el tálamo ipsilesional presenta un alto grado de degeneración retrograda (incluyendo el pulvinar) por lo que el pulvinar funcional luego de la hemisferectomía es exclusivamente el contralateral (Ptito & Leh, 2007; Ueki, 1966). El colículo ipsilateral sin embargo, permanece intacto (Ptito & Leh, 2007; Ueki, 1966); por lo que la proyección intacta se originaría desde el colículo ipsilesional al pulvinar contralesional y este proyecta a su vez la corteza extraestriada remanente contralesional.

Nosotros demostramos en este trabajo que las células del SGS3 en el colículo superior de la ardilla proyectan bilateralmente al pulvinar caudal y este a su vez, a la corteza Tp ipsilateral.

Como hemos visto es muy probable que esta organización de la conectividad en la vía tectofugal se conserve también en primates, lo que se reflejaría en propiedades fisiológicas similares en la vía, incluso a nivel cortical. El área Tp de ardillas ha sido objeto de muy pocos estudios, sin embargo se han descrito respuestas visuales, específicamente campos receptivos grandes y respuestas mantenidas a estímulos visuales pequeños en movimiento (Hall et al., 1971; Kaas et al., 1972 b, c; Sereno, datos no publicados).

Nosotros proponemos que en primates así como en ardillas, células de campos dendríticos grandes ubicadas en la capa SGS3 del colículo superior proyectarían bilateralmente a la división caudal del pulvinar inferior; este núcleo a su vez, envía sus axones a las áreas circundantes a MT, como FST y MST. Estas áreas finalmente, se conectan recíprocamente con el área MT. Por lo tanto, nosotros hipotetizamos que al menos parte de las respuestas al movimiento y direccionalidad exhibidas por las células del área MT serían heredadas de las células del SGS3 en el colículo superior vía la división caudal del pulvinar inferior en primates.

Esta vía sería la responsable (debido a la proyección contralateral del CS al pulvinar) de mantener las respuestas visuales residuales en el campo ciego de individuos hemisferectomizados.

6.4 Origen evolutivo de la neocorteza

6.4.1 La homología en el sistema nervioso: definición y criterios

La homología es el concepto central para todas las comparaciones biológicas, y debe ser definido y usado con mucha precaución. El término ha sido siempre asociado con comparaciones de organismos en busca de grupos naturales; su definición original por Richard Owen (1843) “el mismo órgano en diferentes animales bajo cualquier variedad de forma o función” estaba basada en un concepto filosófico claramente definido: la idea de que un tipo ideal (*bauplan*) existe para cada grupo natural de organismos y que la homología implicaba una comparación y posterior identificación con respecto a ese tipo

ideal. Luego de Darwin y la aceptación general de la teoría de la evolución, la base filosófica de la homología cambió radicalmente, aunque no los métodos de trabajo; la idea de homología implicaba comparación con respecto a un ancestro común, al que corresponde el tipo ideal o *bauplan*; la gran única diferencia entre ellos es su generación, mientras el *bauplan* es la idea de un ser superior y creador o en términos aristotélicos la causa final; el ancestro común se genera por evolución orgánica. Una definición formal actual de homología es: caracteres homólogos (o condición de rasgos) en dos o más organismos son aquellos que pueden ser seguidos hacia atrás filogenéticamente hasta el mismo rasgo (o condición) en el ancestro común inmediato de estos organismos. Esta definición formal de homología aunque aceptable y válida en términos epistemológicos, es heurísticamente débil; es decir no provee un método claro para determinar si dos caracteres en dos o más organismos son homólogos, al menos en el caso del sistema nervioso, debido a que las partes blandas muy rara vez son conservadas en los fósiles, la única fuente de comparación con el ancestro común. Además esta definición no incluye ninguna referencia a similitud entre caracteres o similitud embriológica entre rasgos. Aunque estos aspectos son parte de los métodos usados para reconocer caracteres homólogos, no tienen nada que ver con la definición formal del término. Por lo tanto en la práctica el concepto de homología es puramente empírico, y los criterios de validación son basados completamente en la experiencia comparativa.

R Nieuwenhuys (2003) propuso 4 criterios con orden de importancia relativo, para validar homologías en el sistema nervioso central. Estos son:

1. Similitud en la posición.
2. Similitud en la conectividad u hodología.
3. Similitud en calidad especial (neuroquímica)
4. Continuidad de la similitud en especies intermediarias.

Sin embargo en general ninguno de estos criterios es por si mismo, suficiente para determinar homologías que son oscuras o difíciles de establecer.

La similitud en la posición se propone como el criterio principal debido a que desde el comienzo de la morfología la posición de las partes con respecto a las otras formó el criterio principal para establecer homologías “estas relaciones son principalmente, sino completamente, determinadas por la posición relativa y conexión de las partes” (Owen 1849). Se argumenta además que este criterio se basa en la identidad topológica del tubo neural en el desarrollo de todos los vertebrados, de lo que se desprende que estructuras que deriven de posiciones similares en el tubo neural en especies diferentes son candidatas a ser estructuras homologas. Richard Owen fue paleontólogo y las comparaciones que él realizó tenían que ver naturalmente con estructuras óseas, las que se conectan por relaciones de vecindad; esas relaciones o “conexiones” en palabras de Owen, son las que le entregan al sistema una coherencia funcional. En el sistema nervioso sin embargo las relaciones de posición o vecindad entre estructuras en el desarrollo o en el adulto no tienen ningún sentido funcional; son en cambio las relaciones de conectividad sináptica entre las estructuras lo que le entrega una coherencia funcional “senso motora” al sistema. Por esta razón nosotros pensamos que

son éstas relaciones o "conexiones" las que constituyen el primer criterio para establecer homologías en el sistema nervioso y no la posición relativa en el desarrollo o en el adulto.

Por último, la conservación o cambio de las estructuras neurales en los distintos linajes de vertebrados no tiene relación con la conservación de un plan común ideal, porque como ya vimos éste es un argumento finalista y teleonómico. Pensamos que la evolución del sistema nervioso central no varía, respetando estrictamente la organización del ancestro común (el equivalente post darwiniano del *Bauplan*) sino que los linajes cambian de acuerdo a una conservación de un modo de vida, y que éste cambio está acotado o restringido por la historia del linaje o dicho de otro modo, la organización del ancestro común. Es posible pensar que lo que se conserva o cambia en un animal está directamente relacionado con el modo de vida y en éste sentido las relaciones funcionales deben permanecer en todo momento coherentes con el abanico de comportamientos que despliega el animal en su nicho, lo que en último término es la mantención de una coherencia senso motora. Por ejemplo, muchos animales simples pero muy derivados (el hagfish o muchos parásitos) pierden, ganan o modifican estructuras que los alejan inevitablemente del lo que se podría considerar el plan de construcción u organización del ancestro; y donde muchas veces la historia se ha perdido para siempre, haciendo muy difícil o casi imposible su clasificación dentro de un grupo animal, debido justamente a que el establecimiento de homologías es complejísimo dado que los cambios asociados al modo de vida han superado las restricciones históricas del

linaje.

Por todas estas razones nosotros consideraremos en este trabajo, al criterio de conectividad como el de importancia central a la hora de evaluar una homología en alguna estructura del sistema nervioso.

6.4.2 Historia filogenética de la neocorteza

El origen, expansión y diferenciación de la neocorteza son sin lugar a duda los eventos más importantes de la evolución del cerebro. En las palabras del gran paleontólogo Alfred Romer “la evolución de los hemisferios cerebrales es la historia más espectacular en la anatomía comparada” (Romer, 1960). Esta afirmación toma validez cuando contrastamos el cerebro de un mamífero con el de otros vertebrados.

Los anfibios, los únicos anamniotas entre los tetrápodos, poseen un telencéfalo relativamente simple sin una neocorteza reconocible; sin embargo tienen un palio que es divisible en varias zonas longitudinales. El número preciso y localización de estas zonas está aun en disputa, pero se reconocen generalmente un palio medial, dorsal y lateral (Neary, 1990; Northcutt, 1995). El palio medial se ha propuesto como un homólogo del hipocampo de los mamíferos y el palio lateral con sus fuertes aferencias desde el bulbo olfatorio es probablemente homólogo a la corteza olfatoria. El palio dorsal, así como la neocorteza, está localizado dorsalmente dentro del palio; también recibe algunas aferencias del tálamo dorsal, lo que es considerado como una característica de la neocorteza. Sin embargo el palio dorsal de un anfibio podría catalogarse como bilaminar y no hexalaminar, y sus neuronas similares a piramidales carecen de dendritas basales

(Nieuwenhuys, 1994b). Este también difiere de la neocorteza en su conectividad, sus aferencias talámicas son predominantemente multimodales, no tiene proyecciones fugales fuera del telencéfalo, y tiene fuertes conexiones recíprocas con el bulbo olfatorio (Neary, 1990). Y lo más relevante es que el tálamo dorsal de los anfibios proyecta con más énfasis al palio lateral medial que al palio dorsal, y esto no es lo que se encuentra en la neocorteza.

Los cerebros de los reptiles son muy diversos pero generalmente más grandes y complejos que los anfibios. Dentro de los cerebros reptilianos más simples están los de las tortugas, lo que no es particularmente sorprendente, desde que las tortugas se originaron hace más de 200 millones de años y han sido muy conservativas en su evolución posterior. Cuando cortamos una sección transversal a través del telencéfalo de una tortuga, la presencia de una gran formación celular que protruye al ventrículo es evidente incluso para ojos inexpertos; esta estructura es llamada el Dorsal Ventricular Ridge (DVR). Esta formación existe en todos los reptiles y aves, aunque este varía considerablemente en tamaño (Ulinski, 1983) y es difícil de homologar a cualquier estructura del telencéfalo en anfibios y mamíferos. Dorsal al DVR existe una delgada capa de tejido neural que se organiza en tres capas, de las cuales la intermedia contiene la mayoría de los cuerpos celulares (Ulinski, 1990). Esta corteza trilaminar es divisible en 4 o más zonas longitudinales. Las dos zonas más dorsales, llamadas D1 y D2 de la corteza dorsal reciben aferencias del tálamo dorsal. La zona D1 recibe proyecciones de las regiones límbicas del tálamo dorsal, y la región D2 recibe su mayor aferencia del

núcleo equivalente al geniculado lateral dorsal de mamíferos (LGN), constituyendo así la zona de terminación cortical de la vía talamofugal. La mayoría de las neuronas contactadas por los axones del LGN reptiliano son muy similares a las piramidales de los mamíferos, y además la corteza de la tortuga también contiene células que son similares a interneuronas neocorticales (Connors & Kriegstein, 1986a).

Así la corteza dorsal de la tortuga es un intermediario estructural entre el palio dorsal de los anfibios y la neocorteza de los mamíferos. Sus neuronas son más similares a las neuronas piramidales mamíferas y mucho más claramente organizadas en laminas. Tiene sólo tres laminas, en vez de seis en la neocorteza, pero sus dendritas y axones viajan mucho más rectangularmente (radial y tangencial) que en el palio dorsal de los anfibios. La corteza dorsal de las tortugas recibe también fuertes aferencias del tálamo dorsal, carece de conexiones con el bulbo olfatorio, y envía proyecciones a varios blancos extratelencefálicos. En estos aspectos la corteza dorsal es similar a la neocorteza. Por otro lado la corteza dorsal de las tortugas, carece de conexiones recíprocas con la corteza dorsal contralateral (Bruce & Butler, 1984), y no hay signo de aferencias desde los núcleos del tálamo dorsal auditivos y tectofugales visuales. Estas características hacen de la corteza dorsal de anfibios un “eslabón perdido” entre la corteza dorsal de los anfibios y la neocorteza de los mamíferos, por lo que algunos neuroanatomistas se han referido a él como “neopalio primordial” (Ariens Kappers et al., 1936).

Sin embargo, el enigmático DVR ha sido el punto de debate más importante de la neuroanatomía comparada en los últimos 40 años; debido a que esta estructura es un

componente principal en el telencéfalo de los reptiles y aves, y además, tal como la corteza dorsal, es también similar en varios aspectos a la neocorteza de los mamíferos.

Muy pronto después de la invención de las técnicas de trazado axonal, se hizo evidente que el DVR de los sauropsidos es el principal blanco de las vías sensoriales ascendentes (Karten, 1969). En tortugas el DVR rostrolateral recibe proyecciones visuales desde el núcleo del tálamo dorsal que a su vez recibe aferencias principalmente del tectum óptico (Balaban & Ulinski, 1981). Una zona somatosensorial se ubica medial a la zona visual, y caudoventral a esta, se ubica el blanco principal de proyecciones auditivas desde el tálamo dorsal. Vías similares existen también en aves y lagartijas (Benowitz & Karten, 1976; Krutzfeldt & Wild, 2004; Rainey & Ulinski, 1982; Pritz, 1975; Guirado et al., 2000) aunque el tamaño, posición y citoarquitectura de estas áreas varía significativamente entre especies.

Los mamíferos no poseen una estructura evidentemente homóloga al DVR. Antes de 1960 muchos neuroanatomistas pensaron que el DVR era homólogo al estriado de los mamíferos (lo que explica por que los componentes del DVR eran nombrados con el sufijo -estriado) pero la hipótesis se hizo insostenible cuando se descubrió que reptiles y aves poseían un estriado ventral al DVR. Esto dejó al DVR sin una estructura homóloga en mamíferos, por que la única estructura dorsal al estriado es la neocorteza, la cual citoarquitectónicamente es totalmente diferente del DVR. Por lo tanto si los mamíferos no tienen DVR o estructura homóloga, es parsimonioso decir que el DVR apareció después de que los reptiles y mamíferos divergieran; esto significaría que sólo reptiles

“tardíos” y no los “tempranos” poseían esta estructura. La otra posibilidad es que los reptiles tempranos, incluyendo al último ancestro común de reptiles y mamíferos, poseían un pequeño DVR y que su evidencia es oscura en los mamíferos actuales.

Actualmente existen dos hipótesis para explicar la homología del DVR; una dice que el DVR se hizo parte de la neocorteza en mamíferos, la otra dice que el DVR se transformó en parte del complejo claustroromigdalóide.

La primera hipótesis, que es llamada la “hipótesis neocortical del DVR” fue propuesta originalmente por Harvey Karten (1969) y subsecuentemente modificada por Ann Butler (1994b). Esta dice que el DVR de los sauropsidos es homólogo a la corteza visual extraestriada y la corteza auditiva y que la corteza dorsal es homólogo a la neocorteza medial que corresponde principalmente a la corteza visual primaria y a la corteza somatosensorial. La evidencia más poderosa que sostiene esta teoría es que el DVR recibe aferencias auditivas y tectofugales visuales del tálamo dorsal tal como la neocorteza lateral que incluye las cortezas auditiva y visual extraestriada (Karten, 1968; Pritz, 1974; Pritz & Stritzel, 1992).

La otra hipótesis que intenta explicar el origen evolutivo de la neocorteza es la “hipótesis claustroromigdalóide del DVR” la que fue desarrollada por Nils Holmgren (1925) y luego modificada por Bruce & Neary (1995) y Puéllés et al. (2000). De acuerdo a esta hipótesis, el DVR sauropsido es homólogo al complejo claustroromigdalóide (CA), el que incluye el claustroromigdalóide y la amígdala basolateral que constituye la porción palial de este complejo. La evidencia principal a favor de esta teoría es que la porción que da

origen en la neurogénesis al CA es similar al que da origen al DVR. Este hecho fue aparente para Holmgren observando secciones a diferentes estadios embrionicos sometidas a tinción de Nissl; observación que ha sido confirmada por varias técnicas modernas, incluyendo tinción para glías radiales, mapas de destino del desarrollo y mapas de expresión génica en el desarrollo (Misión et al., 1991; Striedter & Beydler, 1997; Smith-fernandez et al., 1998; Puelles et al., 2000). De acuerdo a esta hipótesis, esta similitud en el origen embriológico es un remanente filogenético, en otras palabras retenido desde el ancestro común; en contraste las diferencias de posición y morfología en el adulto son interpretadas como el resultado de divergencia filogenética en el desarrollo tardío.

Específicamente esta hipótesis implica que el complejo claustroromigdalóide de los mamíferos es presionado ventralmente por el estriado y dorsalmente por la neocorteza hasta que se distancia del ventrículo, mientras que en los sauropsidos aumenta de volumen hasta llegar a ser el DVR, la región más grande del telencéfalo en estos animales. Esto implica también que el DVR adquirió nuevas conexiones que posteriormente lo llevaron a una similitud funcional con la neocorteza. Así un punto central en esta hipótesis es que el desarrollo temprano es más conservativo que la conectividad neuronal o la posición en el adulto.

En este contexto Bruce & Neary (1995) propusieron un argumento hodológico que respalda la hipótesis claustroromigdalóide del DVR. Según estos autores el núcleo talámico tecto recipiente que proyecta a la amígdala lateral, pertenece al complejo

intralaminar, por lo que sería este núcleo el homólogo al núcleo rotundus en reptiles y aves, y no una división del complejo pulvinar. Es decir, según estos autores la vía tecto fugal en mamíferos correspondería a un componente del complejo intralaminar que recibe una proyección desde el colículo superior y que a su vez, proyecta a la amígdala lateral.

A continuación contrastaremos estas hipótesis acerca de la homología de la vía tecto fugal en mamíferos, analizando en profundidad nuestros resultados y la literatura.

6.4.3 Comparación entre las vías tectofugal en mamíferos y aves

6.4.4 La proyección tectorotundal: homología de los núcleos rotundus (aves y reptiles) y pulvinar caudal (mamíferos)

Como hemos visto el punto fundamental en esta discusión es si el núcleo homólogo en mamíferos al rotundus de reptiles y aves, es una parte del complejo intralaminar, o es en cambio el pulvinar caudal.

La proyección tectorotundal en aves y reptiles posee varias particularidades anatómicas diagnósticas para esta vía, al menos dentro de estos grupos animales. Estas características son:

1. La proyección al rotundus se origina en células con árboles dendríticos grandes con especializaciones en sus terminales en forma de cepillo. Estas especializaciones terminan exclusivamente en una capa tectal. Específicamente las células del tipo I terminan en la capa 5b.

2. Estas células proyectan con mayor énfasis al rotundus ipsilateral, pero una colateral deja también terminales en el rotundus contralateral.
3. La topografía de la proyección es especial; células distribuidas sobre toda la superficie tectal proyectan sobre un locus pequeño en el rotundus, de modo que todo el campo visual esta representado en ese punto. Un locus adyacente en el rotundus posee las mismas propiedades.

Varias de estas características han sido demostradas por varios grupos en diferentes animales filogenéticamente muy distantes (Dávila et al. 2002, lagartija; Reiner et al. 1994; Rainer & Ulinski, 1982, tortugas; Pritz 1975, caiman; Benowitz & Karten, 1976; Mpodozis et al. 1996; Marin et al., 2003, aves)

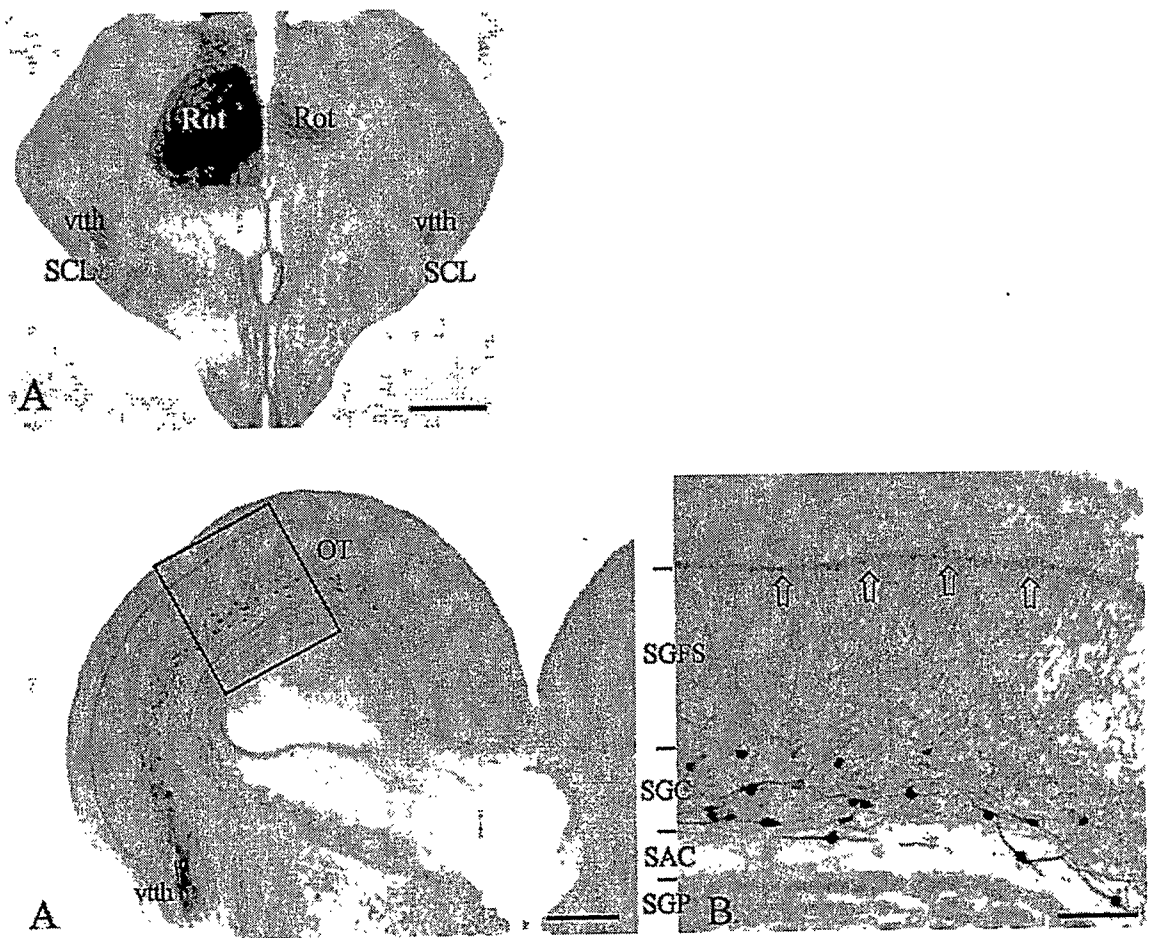


Figura 56. Inyección de BDA en el núcleo rotundus de una lagartija y el transporte resultante en el tectum. A (superior) muestra el sitio de inyección en el núcleo rotundus (izquierda). Note la imagen del sitio en el rotundus contralateral (derecha). A. (inferior) transporte en el tectum ipsilateral como resultado de la inyección en el rotundus. B. fotografía a mayor aumento del recuadro en A. Note que los cuerpos celulares se ubican en el SGC. Note también la marca en la capa superior indicada con flechas. Tomado de Dávila et al. 2002.

Dávila et al. (2002) realizaron inyecciones de BDA en el núcleo rotundus de la lagartija *Psandromus algirus*. Sus resultados muestran un marcaje retrogrado bilateral en el tectum. Los cuerpos celulares marcados se ubican exclusivamente en la capa SGC y las dendritas de estas células se proyectan hacia la superficie tectal. En una capa superior se observa una marca aparentemente equivalente a la que aparece en la capa 5b del tectum de la paloma luego de una inyección en el rotundus. Esta banda corresponde en palomas,

a las terminaciones dendríticas especializadas de estas células (“bottlebrush dendritic endings”). Estas identidades sugieren fuertemente que la morfología de dichas células en la lagartija es similar a la de aquellas rotundo proyectantes en aves; es decir, campos dendríticos amplios y especializaciones dendríticas que terminan en una sola capa tectal.

Esta conservación estructural de la proyección tecto rotundal, incluso a nivel celular confirma su homología en aves y reptiles. En este trabajo nosotros hemos demostrado que en mamíferos la situación no es muy diferente.

En nuestros resultados hemos demostrado que el núcleo pulvinar caudal de la ardilla comparte las siguientes características con el núcleo rotundus en aves y reptiles.

1. La proyección al pulvinar caudal se origina en células ubicadas en la capa SGS3 del colículo superior.
2. Estas células muy posiblemente corresponden a las células llenadas intracelularmente por Major et al. (2000) las que muestran una morfología muy similar a aquellas rotundo proyectantes en aves (Luskch et al. 1998).
3. Estas células proyectan bilateralmente al núcleo pulvinar caudal.
4. La topografía en esta proyección es especial; nuestros resultados sugieren que células distribuidas sobre toda la superficie del colículo proyectan sobre un locus pequeño en el pulvinar caudal, de modo que todo el campo visual esta representado en ese punto. Un locus adyacente en el rotundus posee las mismas propiedades.

Sin embargo, existe un estudio discrepa con nuestros resultados. Guirado et al. (2005)

analizaron la conectividad del núcleo supragenicolado en el ratón con técnicas de trazado axonal. Como resultado de las inyecciones de BDA en este núcleo perteneciente al complejo intralaminar, fue posible observar células retrógradamente marcadas en el SGI del colículo superior. Los autores argumentan que estos resultados son evidencias para la homología del núcleo supragenicolado en el ratón y el núcleo rotundus de aves y reptiles.

El primer punto en contra de esta interpretación es que el ratón no es un buen modelo en la comparación con animales diurnos y visualmente muy dependientes como las aves, debido a que este animal es nocturno y principalmente olfativo en su vivir. La rata posee una retina con alrededor de 100.000 ganglionares y un porcentaje de conos no mayor al 2% (Jacobs et al. 2003; Brooks et al. 1999). Esto se correlaciona con vías visuales poco desarrolladas. Otro punto es la morfología de las células tectales proyectantes al supragenicolado: no se observa ninguna marca en las capas superiores que indique una terminación dendrítica específica y por lo tanto no hay sustrato para sugerir una morfología similar a las células rotundo proyectantes en el tectum de aves.

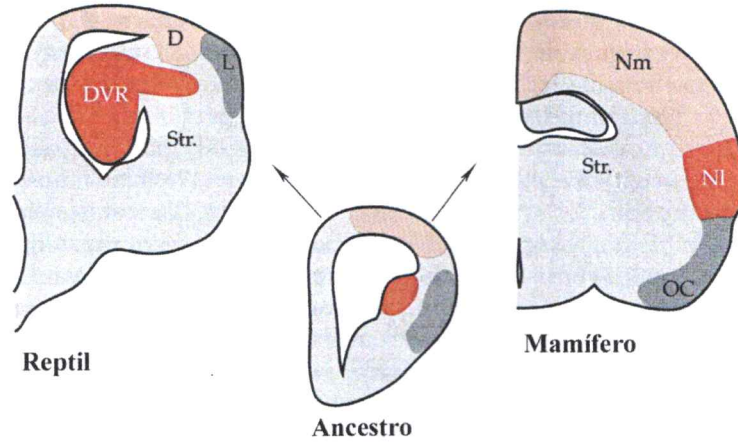
Una característica diagnóstica en la vía tectofugal es la bilateralidad en la proyección al rotundus en aves. En el caso de las inyecciones en el supragenicolado del ratón, Guirado et al (2005) muestran solo 2 células en el CS contralateral al sitio de inyección, un número que comparado con nuestros resultados de inyecciones en el pulvinar caudal de la ardilla es insignificante. Directamente relacionado con este argumento es la posición laminar de los somas en el tectum. Nuestros resultados muestran que las células

proyectantes al pulvinar caudal se ubican en el SGS3 bilateralmente, mientras que las células proyectantes al pulvinar rostral se ubican en el SGI ipsilateral. Guirado et al. (2005) encuentran cuerpos celulares en el *stratum opticum* del CS ipsilateral y 2 células en el SGI del colículo superior contralateral. La ubicación de estas células no coincide con aquellas proyectantes al pulvinar caudal en ardillas.

En este estudio hemos mostrado que el homólogo a la vía tectogal de aves/reptiles en mamíferos es probablemente la vía SGS3 del colículo superior-pulvinar caudal y no un núcleo perteneciente al complejo intralaminar como otros autores han postulado (Bruce & Neary, 1990; Puelles et al., 2000). Además, nuestros resultados muestran que el núcleo pulvinar caudal, homólogo al núcleo rotundus de reptiles y aves, no proyecta a ninguna división de la amígdala, sino que su blanco palial exclusivo es la corteza temporal extraestriada. Estos hallazgos no sustentan la teoría claustró amigdalóide del DVR, por el contrario, estos resultados sugieren que el DVR podría tener alguna relación filogenética con la corteza temporal.

A continuación evaluaremos esta posibilidad tomando en cuenta los detalles anatómicos de la conectividad con el telencéfalo de la vía tectofugal en reptiles/aves y mamíferos.

A. Hipótesis neocortical del DVR



B. Hipótesis clastroamigdaloid del DVR

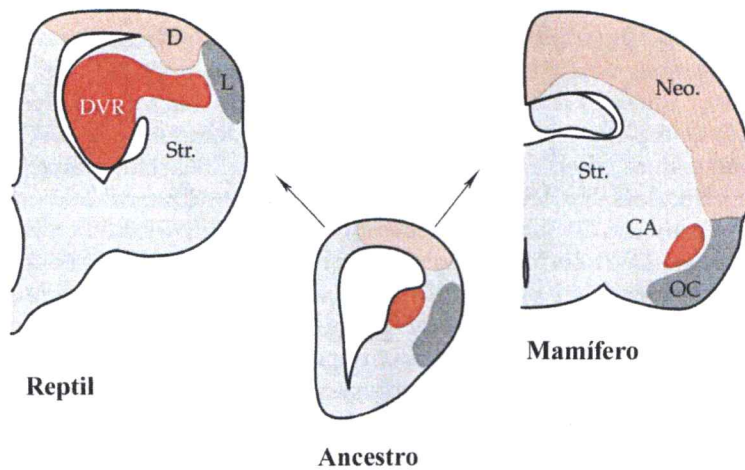
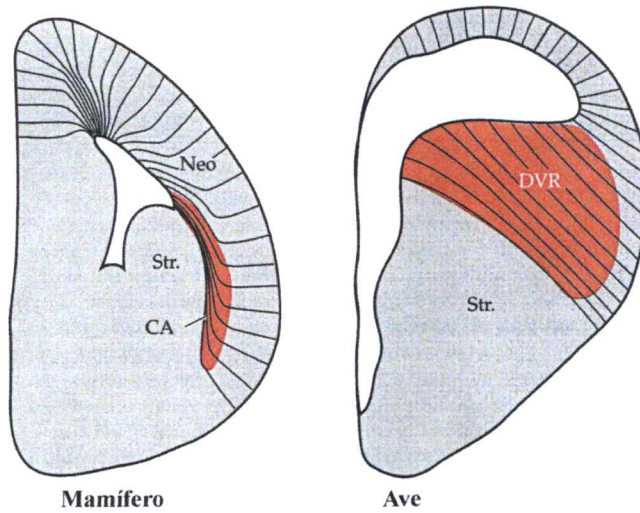


Figura 57. Esquema que muestra los aspectos principales de las hipótesis de homología del DVR en amniotas. A. La hipótesis neocortical del DVR asume que el DVR reptiliano es homólogo a la porción lateral de la neocorteza en mamíferos (NI) la que incluye la corteza auditiva y extraestriada visual. B. la hipótesis clastroamigdaloid del DVR postula que el DVR reptiliano es homólogo a la amígdala basolateral y el clastro ventral que juntos son llamados como el núcleo endopiriforme. (Modificado de Striedter, 2005)

A. Glias radiales en embriones de ratón y pollo



B. Expresión de genes reguladores en ratón y pollo

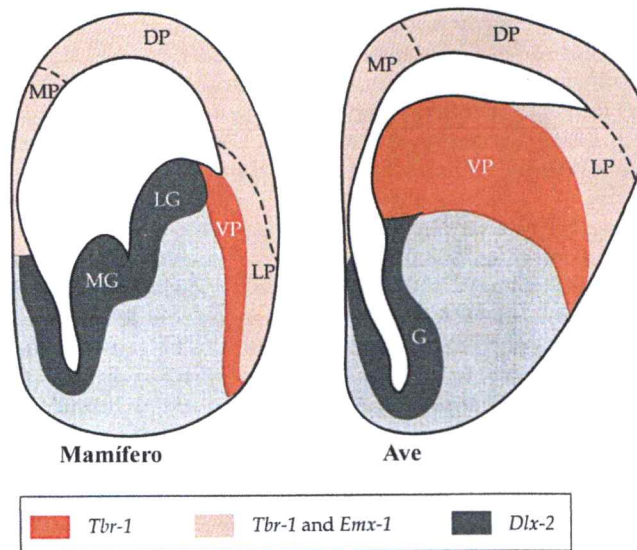


Figura 58. La embriología y la hipótesis claustramoigdal del DVR. En esta figura se presentan los argumentos más fuertes que sostienen la teoría. A. Las glías radiales (líneas negras) se encuentran en el telencéfalo de embriones de mamíferos y aves. Su distribución espacial y orientación es bastante diferente entre mamíferos y aves, pero es posible encontrar una equivalencia topológica entre los cerebros. Esto sugiere una que el complejo claustramoigdal se ubica en la misma posición topológica que el DVR, desde que las glías radiales indican las rutas para la migración neuronal en el desarrollo. B. Los factores de transcripción *Tbr-1*, *Dlx-2* y *Emx-1* son expresados en el cerebro en desarrollo de ratones y pollos. En ambas especies *Dlx-2* marca el subpalio, *Tbr-1* el palio, *Emx-1* es interesante por que se expresa en todo el palio, excepto en la porción ventrolateral (Smith-Fernandez et al., 1998), área llamada palio ventral por Puelles et al. (2000). Este palio ventral se desarrolla como parte del complejo claustramoigdal en mamíferos y en parte del DVR en aves. (Modificado de Striedter, 2005)

6.4.5 Proyecciones al telencéfalo provenientes del rotundus/pulvinar caudal

Varios estudios sugieren que las fibras ascendentes provenientes del núcleo rotundus dejan terminales en su paso por el globos palidus y estriado lateral en aves y reptiles (Guirado et al. 2005; Dávila et al. 2002; Ahumada 2008, observaciones no publicadas).

Nuestros resultados de inyecciones de CTb y BDA en el núcleo pulvinar caudal muestran un plexo de fibras en el caudado putamen. Estos resultados sugieren que la proyección al estriado es un rasgo conservado en la proyección tectofugal entre vertebrados amniotas. Al respecto, Krutzfeldt & Wild (2004) mostraron que inyecciones en la parte ventral del entopallio en palomas, producían una marca anterógrada en el estriado. Estos terminales colocalizan con la marca anterógrada que resulta luego de inyecciones en el Rt (Dávila et al. 2002; Ahumada & Mpodozis, 2008 observaciones no publicadas), esto podría deberse a que el estriado es el blanco de las proyecciones del rotundus y del entopallio independientemente, o a que los axones provenientes del rotundus dejan terminales en el estriado en su trayectoria hacia el entopallio.

En el caso de los mamíferos, nosotros hemos demostrado en este estudio que inyecciones en la corteza Tp resultan en una marca anterógrada en el caudado putamen que colocaliza con los terminales marcados en esta misma estructura luego de las inyecciones en el pulvinar caudal. Al igual que el caso de las aves, dos explicaciones son posibles: que el pulvinar caudal y la corteza Tp proyecten independientemente al caudado putamen o que las células del pulvinar caudal envíen un axón a la corteza Tp y

una colateral del mismo al caudado putamen. Lin et al. (1984) estudiaron la conectividad del pulvinar y el geniculado medial con la corteza temporal y el estriado; en ardillas grises (*Sciurus carolinensis*) y musarañas arborícolas (*Tupaia glis*). Como resultado de su estudio los autores demostraron que el pulvinar y el geniculado medial proyectan a la región lateral del caudado putamen. Además, los autores describen que lesiones en la corteza temporal que esta recíprocamente conectada con estos núcleos talámicos, generan un patrón de degeneración anterógrada en la región lateral del caudado putamen, colocalizando con la región aferentada por el pulvinar y el geniculado medial. Los autores especulan que las células del pulvinar y geniculado medial proyectan a la corteza y mediante una colateral al caudado putamen, explicando la colocalización de los terminales en dicha estructura.

Nosotros pensamos que dadas estas similitudes en la organización de esta proyección, podríamos considerarla como característica de las vías tectofugales al telencéfalo palial (auditiva y visual) en los amniotas; es decir, que los axones talámicos ascendentes contacten las células del estriado en su paso al palio. Estos resultados además, refuerzan la hipótesis de que los destinos telencefálicos (paliales y subpaliales) en la vía tectofugal en aves/reptiles y la vía colopulvinar en mamíferos se conservan. Esta es una evidencia más a favor de la hipótesis neocortical del DVR, en el sentido de que la corteza extraestriada de mamíferos (Tp) y el DVR visual de aves (entopalio) comparten con el estriado aferencias provenientes desde las mismas células del rotundus/pulvinar caudal, vía una colateral. Como estos circuitos aferentes hacia la corteza Tp/entopalio se

conservan hasta este nivel, es posible pensar que hay una correspondencia específica entre el entopallio y el sitio de terminación específico de los axones provenientes del pulvinar caudal.

Al respecto, Karten (1969) hipotetizó que diferentes poblaciones neuronales del DVR de las aves podrían corresponder a –o ser homólogos a- poblaciones celulares específicas que comprenden las laminas de la neocorteza temporal. Con respecto al entopallio, se hipotetizó que las células que reciben las aferencias rotundales podrían corresponder a la lamina IV de la corteza visual extraestriada de mamíferos (Aboitiz & Montiel, 2007). Aunque esta idea es controversial (Puelles, 2001), es innegable que en aves y reptiles los núcleos sensoriales talámicos de relevo tectal (rotundus y ovoidalis), proyectan sobre poblaciones de neuronas paliales específicas de una manera muy similar a las proyecciones de los núcleos talámicos colorecipientes (pulvinar caudal y geniculado medial) específicamente a la lamina IV de la corteza extraestriada (como se ha demostrado en este estudio) y auditiva en mamíferos, respectivamente. Sin embargo estas proyecciones pueden no estar siempre confinadas a la lamina IV y pueden incluir laminas más profundas o superficiales. En el presente estudio hemos demostrado que las aferencias desde el pulvinar caudal a la corteza Tp se localizan principalmente en la capa IV, sin embargo es posible apreciar axones en la parte superior de la capa VI, que presentan una morfología diferente a aquellos que se localizan en la capa IV. En la paloma de ha descrito que algunos de los axones provenientes del rotundus continúan dorsalmente cruzando el entopallio, arborizando en una región nidopalial adyacente

(Ahumada & Mpodozis, 2008. Observaciones no publicadas). Estos datos pueden interpretarse como evidencias de la correspondencia entre el DVR visual y las laminas IV y VI de la corteza. Las células de la capa VI, sin embargo proyectan sus axones de vuelta al núcleo pulvinar caudal, como fue demostrado en este estudio. Esta característica hodológica de la vía pulvino cortical (y en general de toda la neocorteza), no está presente en la vía rotundo entopialial de aves y reptiles oscureciendo la homología entre la corteza extraestriada y el entopalio.

En este estudio hemos querido aportar con datos anatómicos sólidos a la comparación de la corteza visual extraestriada de mamíferos y el DVR visual de aves. Sin embargo la pregunta por el origen filogenético de la neocorteza de mamíferos tiene sutilezas que van más allá de este estudio. Se necesita además, de un entendimiento mucho más acabado de la conectividad del cerebro para dar respuesta a esta pregunta. Este problema requiere también de estudios detallados en animales menos derivados como el Tuatara (*Sphenodon*) con el objetivo de acercarnos un poco más a la organización neural del ancestro común entre reptiles y mamíferos.

6.5 Conclusiones

1. Hay una conservación estructural incluso hasta nivel celular, en la proyección tectorotundal en aves y la proyección colopulvinar en ardillas.
2. Estos resultados sugieren fuertemente que el núcleo pulvinar caudal de ardillas es homólogo al núcleo rotundus de aves y reptiles.
3. Este nivel de conservación sugiere que el núcleo caudal pulvinar inferior en primates se organiza de la misma forma, y se podría considerar homólogo al núcleo rotundus de aves y reptiles.
4. Esta conservación estructural sugiere que la vía colopulvinar esta involucrada en la detección de movimiento, como ha sido demostrado para la vía tectofugal en aves.
5. Es posible que las respuestas al movimiento en el área cortical MT de primates dependan en algún grado de la vía colopulvinar, y no exclusivamente del vía retino-geniculo-corteza estriada como se piensa hasta ahora.
6. Dada la homología de la vía colopulvinar en mamíferos y tectorotundal en aves y reptiles, los destinos telencefálicos paliales de estas vías podrían estar relacionados filogenéticamente entre si.

7. Referencias

- Abramson BP, Chalupa LM. 1988. Multiple pathways from the superior colliculus to the extrageniculate visual thalamus of the cat. *J Comp Neurol.* 271:397-418.
- Aboitiz F. & Montiel J. 2007. Origin and Evolution of the Vertebrate Telencephalon, with Special Reference to the Mammalian Neocortex. Springer-Verlag.
- Albano JE, Humphrey AL, Norton TT. 1978. Laminar organization of receptive-field properties in tree shrew superior colliculus. *J Neurophysiol.* 41:1140-64.
- Albano JE, Norton TT, Hall WC. 1979. Laminar origin of projections from the superficial layers of the superior colliculus in the tree shrew, *Tupaia glis*. *Brain Res.*173:1-11.
- Albright TD. 1984. Direction and orientation selectivity of neurons in visual area MT of the macaque. *J Neurophysiol.* 52:1106-30.
- Ariëns Kappers CU, Huber CG, Crosby EC. 1936. Comparative Anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. New York: Hafner Press (1960 edition).
- Angaut P, Reperant J. 1976. Fine structure of the optic fibre termination in the pigeon optic tectum: a Golgi and electron microscope study. *Neuroscience* 1:93-105.
- Balaban CD & Ulinski PS. 1981. Organization of thalamic afferents to anterior dorsal ventricular ridge in turtles. I. projections to thalamic nuclei. *J Comp Neurol* 200:95-129.
- Behan M, Appell PP. 1992. Intrinsic circuitry in the cat superior colliculus: projections from the superficial layers. *J Comp Neurol.* 315:230-43.
- Benevento LA & Fallon JH. 1975. The ascending projections of the superior colliculus in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol.* 160:339-61.
- Benevento LA, Rezak M. 1976. The cortical projections of the inferior pulvinar and adjacent lateral pulvinar in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*): an autoradiographic study. *Brain Res.* 108:1-24.
- Benevento LA & Standage GP. 1983. The organizations of projections of the retinorecipient and non retinorecipient nuclei of the pretectal complex and layers of the superior colliculus to the lateral pulvinar and medial pulvinar of the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 217:307-329.
- Benowitz LI, Karten HJ. 1976. Organization of the tectofugal pathway in the pigeon: a retrograde transport study. *J Comp Neurol* 167:503-520.

- Berson DM, Graybiel AM. 1991. Tectorecipient zone of cat lateral posterior nucleus: evidence that collicular afferents contain acetylcholinesterase. *Exp Brain Res* 84:478-86.
- Braun K, Scheich H, Schachner M, Heizmann CW. 1985. Distribution of parvalbumin, cytochrome oxidase activity and ¹⁴C-2-deoxyglucose uptake in the brain of the zebra finch. II. Visual system. *Cell Tissue Res* 240:117-127.
- Brooks DE, Komaromy AM, Källberg ME. 1999. Comparative retinal ganglion cell and optic nerve morphology. *Vet Ophthalmol*. 2:3-11.
- Bruce LL & Butler AB. 1984. Telencephalic connections in lizards. I. Projections to cortex. *J Comp Neurol* 229:585-601.
- Bruce LL & Neary TJ, 1995. The limbic systems of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar projections. *Brain Behav Evol* 46:224-234.
- Boussaoud D, Desimone R, Ungerleider LG. 1992. Subcortical connections of visual areas MST and FST in macaques. *Vis Neurosci*. 9:291-302.
- Butler AB. 1994a. The evolution of the dorsal pallium in the telencephalon of amniotes: cladistic analysis and a new hypothesis. *Brain Res Brain Res Rev*. 19:66-101.
- Butler AB. 1994b. The evolution of the dorsal thalamus of jawed vertebrates including mammals: cladistic analysis and a new hypothesis. *Brain Res Rev* 19: 29-65.
- Butler AB & Hodos W. 2005. *Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and adaptation*. John Wiley & Sons.
- Casagrande VA & Diamond IT. 1974. Ablation study of the superior colliculus in the Tree shrew (*Tupaia glis*). *J Comp Physiol A, Neuroethology, sensory, neural and behavioral physiology* 156:207-237.
- Connors BW & Kriegstein AR. 1986. Cellular physiology of the turtle visual cortex: distinctive properties of pyramidal and stellate neurons. *J Neurosci* 6:164-177.
- Coolen LM, Jansen HT, Goodman RL, Wood RI, Lehman MN. 1999. A new method for simultaneous demonstration of anterograde and retrograde connections in the brain: co-injections of biotinylated dextran amine and the beta subunit of cholera toxin. *J Neurosci Methods* 91:1-8.

- Cynader M, Berman N. 1972. Receptive-field organization of monkey superior colliculus. *J Neurophysiol.* 35:187-201.
- Dávila JC, Andreu MJ, Real MA, Puelles L, Guirado S. 2002. Mesencephalic and diencephalic afferent connections to the thalamic nucleus rotundus in the lizard, *Psammmodromus algirus*. *Eur J Neurosci.* 16:267-82.
- Deng C, Rogers LJ. 1998. Organization of the tecto-rotundal and SP/IPS rotundal projection in the chick. *J Comp Neurol* 394:171-185.
- Desimone R, Ungerleider LG. 1986. Multiple visual areas in the caudal superior temporal sulcus of the macaque. *J Comp Neurol.* 248:164-89.
- Diamond IT. 1976. Organization of the visual cortex: Comparative anatomical and behavioral studies. *Federation Proceedings* 35, 60-67.
- Diamond IT, Fitzpatrick D, Conley M. 1992. A projection from the parabigeminal nucleus to the pulvinar nucleus in Galago. *J Comp Neurol.* 316:375-82.
- Donnelly JF, Thompson SM, Robertson RT. 1983. Organization of projections from the superior colliculus to the thalamic lateral posterior nucleus in the rat. *Brain Res.* 288:315-9.
- Egedi Gy, Tombol T. 1993. A phaseolus lectin anterograde tracing study of the rotundo-telencephalic projections in the domestic chick. *J Hirnforsch* 34:317-333
- Engelage J, Bischof HJ. 1993. The organization of the tectorotundal pathways in birds: a comparative review. In: Ziegler HP, Bischof HJ, editors. *Vision, brain and behavior in birds*. Cambridge, MA: MIT Press. p137-158.
- Engelage J, Bischof HJ. 1997. Single cell responses in the ectostriatum of the zebra finch. *J Comp Physiol [A]* 179:785-795.
- Felleman DJ, Kaas JH. 1984. Receptive-field properties of neurons in middle temporal visual area (MT) of owl monkeys. *J Neurophysiol.* 52:488-513.
- Frost BJ, Difrancia DE. 1976. Motion characteristics of single units in the pigeon optic tectum. *Vis Res* 16:1229-1234.
- Frost BJ, Nakayama K. 1983. Single visual neurons code opposing motion independent of direction. *Science* 220:744-745.

- Frost BJ, Cavanagh P, Morgan B. 1988. Deep tectal cells in pigeons respond to kinegrams. *J Comp Physiol* 162:639-647.
- Fukuda Y. 1977. A three-group classification of rat retinal ganglion cells: histological and physiological studies. *Brain Res.* 119:327-34.
- Gamlin PD, Cohen DH. 1986. A second ascending visual pathway from the optic tectum to the telencephalon in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol.* 250:296-310.
- Gans C, Northcutt RG. 1983. Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science* 220:268-274.
- Graham J. 1977. An autoradiographic study of the efferent connections of the superior colliculus in the cat. *J Comp Neurol.* 173:629-54.
- Graham J, Berman N. 1981. Origins of the projections of the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus and the pulvinar in the rabbit. *Neurosci Lett.* 26:101-6.
- Graham J, Berman N, Murphy EH. 1982. Effects of visual cortical lesions on receptive-field properties of single units in superior colliculus of the rabbit. *J Neurophysiol.* 47:272-86.
- Granda AM, Yazulla S. 1971. The spectral sensitivity of single units in the nucleus rotundus of pigeon, *Columba livia*. *J Gen Physiol.* 57:363-84.
- Graybiel AM & Berson DM. 1980. Histochemical identification and afferent connections of subdivisions in the LP-pulvinar complex and related nuclei in the rat. *Neuroscience* 5:1175-1190.
- Guirado S; Davila JC; Real MA; Medina L. 2000. Light and electron microscopic evidence for projections from the thalamic reticular nucleus rotundus to targets in the basal ganglia, the dorsal ventricular ridge, and the amygdaloid complex in a lizard. *J Comp Neurol* 424:216-232.
- Guirado S; Real MA; Dávila JC. 2005. The ascending tectofugal visual system in amniotes: new insights. *Brain Res Bull.* 66:290-6.
- Gu Y; Wang Y; Zhang T; Wang SR. 2002. Stimulus size selectivity and receptive field organization of ectostriatal neurons in the pigeon. *J Comp Physiol [A]* 188:173-178.

- Hall, WC; Kaas JH; Killackey H; Diamond T. 1971. Cortical visual areas in the grey squirrel: a correlation between cortical evoked potential maps and architectonic subdivisions. *J Neurophys.* 34:437-452.
- Harting JK, Hall WC, Diamond IT. 1972. Evolution of the pulvinar. *Brain Behav Evol.* 6:424-52.
- Harting JK; Huerta MF; Frankfurter A; Strominger N; Royce GJ. 1980. Ascending pathways from the monkey superior colliculus: An autoradiographic analysis. *J Comp Neurol* 192:853-874.
- Harrell JV, Caldwell RB, Mize RR. 1982. The superior colliculus neurons which project to the dorsal and ventral lateral geniculate nuclei in the cat. *Exp Brain Res.* 46:234-42.
- Hellman B, Gunturkun O. 1999. Visual-field specific heterogeneity within the tectoretinal projection of the pigeon. *Eur J Neurosci* 11:2635-2650.
- Hellman B, Gunturkun O. 2001. Structural organization of parallel information processing within the tectofugal visual system of the pigeon. *J Comp Neurol* 429:94-112.
- Hellmann B, Waldmann C, Guntürkün O. 1995. Cytochrome oxidase activity reveals parcellations of the pigeon's ectostriatum. *Neuroreport* 6:881-5.
- Hodos W, Karten HJ. 1969. A stereotaxic atlas of the pigeon (*Columba livia*). The Johns Hopkins Press.
- Hodos W, Karten HJ. 1966. Brightness and pattern discrimination deficits in the pigeon after lesions of the nucleus rotundus. *Exp Brain Res* 2:51-167.
- Holmgren N, 1925. Points of view concerning forebrain morphology in higher vertebrates. *Acta Zool Stockh* 6:413-477.
- Holstege G & Collewyn H. 1982. The efferent connections of the nucleus of the optic tract and the superior colliculus in the rabbit. *J Comp Neurol* 209:139-150.
- Huerta MF, Harting JK. 1983. Sublamination within the superficial gray layer of the squirrel monkey: an analysis of the tectopulvinar projection using anterograde and retrograde transport methods. *Brain Res.* 261:119-26.
- Hubel DH; LeVay S; Wiesel TN. 1975. Mode of termination of retinotectal fibers in macaque monkey: an autoradiographic study. *Brain Res* 96:25-40.

- Humphrey NK. 1968. Responses to visual stimuli of units in the superior colliculus of rats and monkeys. *Exp Neurol*. 20:312-40.
- Hunt SP, Kunzle H. 1976. Observations on the projection and intrinsic organization of the pigeon optic tectum: an autoradiographic study based on anterograde and retrograde, axonal and dendritic flow. *J Comp Neurol* 170:153-172.
- Hunt SP, Webster KE. 1975. The projection of the retina upon the optic tectum of the pigeon. *J Comp Neurol* 162:433-446.
- Husband SA, Shimizu T. 1999. Efferent projections of the ectostriatum in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 406:329-345.
- Jacobs GH; Calderone JB; Fenwick JA; Krogh K; Williams GA. 2003 Visual adaptations in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*. 189:347-61.
- Jassik-Gerschenfeld D, Guichard J. 1972. Visual receptive fields of single cells in the pigeon optic tectum. *Brain Res* 40:303-317.
- Kaas JH; Hall WC; Diamond T. 1972b. Visual cortex of the tree shrew (*Tupaia glis*): Architectonic subdivisions and representation of the visual field. *Brain Res* 42:491-496.
- Kaas JH; Hall WC; Killackey H; Diamond T. 1972c. Visual cortex of the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*): architectonic subdivisions and connections from the visual thalamus. *J Comp Neurol*. 145:273-306.
- Kaas JH, Harting JK, Guillery RW. 1974. Representation of the complete retina in the contralateral superior colliculus of some mammals. *Brain Res* 65:343-6.
- Kaas JH, Lin CS, Casagrande VA. 1976. The relay of ipsilateral and contralateral retinal input from the lateral geniculate nucleus to striate cortex in the owl monkey: a transneuronal transport study. *Brain Res*. 106:371-8.
- Kaas JH, Morel A. 1993. Connections of visual areas of the upper temporal lobe of owl monkeys: the MT crescent and dorsal and ventral subdivisions of FST. *J Neurosci*. 13:534-46.
- Kadoya S, Wolin LR, Massopust LC. 1971. Collicular unit responses to monochromatic stimulation in squirrel monkey. *Brain Res*. 32:251-4.

- Karten HJ, 1968. The organization of the ascending auditory pathway in the pigeon (*Columba livia*). II. Telencephalic projections of the nucleus ovoidalis thalami. *Brain Res* 11:134-153.
- Karten HJ, 1969. The organization of the avian telencephalon and some speculations on the phylogeny of the amniote telencephalon. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 167:164-179.
- Karten HJ, Hodos W. 1967. A stereotaxic atlas of pigeon brain (*Columba livia*). Baltimore: The Johns Hopkins Press.
- Karten HJ, Hodos W. 1970. Telencephalic projections of the nucleus rotundus in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 140:35-51.
- Karten HJ, Cox K, Mpodozis J. 1997. Two distinct populations of tectal neurons have unique connectives within the tectorotundal pathway of the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 387:449-465.
- Kawamura S, Fukushima N, Hattori S, Kudo M. 1980. Laminar segregation of cells of origin of ascending projections from the superficial layers of the superior colliculus in the cat. *Brain Res.* 184:486-90.
- Kimberly RP; Holden AL; Bamborough P. 1971. Response characteristics of pigeon forebrain cells to visual stimulation. *Vision Res* 11:475-487.
- Krubitzer L; Kaas J. 1990. Convergence of processing channels in the extrastriate cortex of monkeys. *Vis Neurosci.* 5:609-13.
- Krutzfeldt NOE, Wild JM. 2004. Definition and connections of the entopallium in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Comp Neurol* 468:452-465.
- Krutzfeldt NO, Wild JM. 2005. Definition and novel connections of the entopallium in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol.* 490:40-56.
- Kubota T, Morimoto M, Kanaseki T, Inomato H. 1989. Projection from the superficial layers of the tectum to the pretectal complex in the cat. *Brain Res Bull.* 22:373-8.
- Kuljis RO, Fernandez V. 1982. On the organization of the retino-tecto-thalamo-telencephalic pathways in a Chilean rodent; the Octodon degus. *Brain Res.* 234:189-204.
- Lagae L, Gulyas B, Raiguel S, Orban GA. 1989. Laminar analysis of motion information processing in macaque V5. *Brain Res.* 496:361-7.

- Lane RH; Allman JM; Kaas JH. 1971. Representation of the visual field in the superior colliculus of the gray squirrel (*Sciurus carolinensis*) and the tree shrew (*Tupaia glis*). *Brain research* 26:277-292.
- Lane RH; Allman JM; Kaas JH; Miezin FM. 1973. The visuotopic organization of the superior colliculus of the owl monkey (*Aotus trivirgatus*) and the bush baby (*Galago senegalensis*). *Brain Res* 60:335-49.
- Langer TP, Lund RD. 1974. The upper layers of the superior colliculus of the rat: a Golgi study. *J Comp Neurol*.158:418-35.
- Laverghetta AV & Shimizu T. 1999. Visual discrimination in the pigeon (*Columba livia*): effects of selective lesions in the nucleus rotundus. *Neuroreport* 10:981-985.
- Laverguetta AV & Shimizu T. 2003. Organization of the ectostriatum based on afferent connections in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *Brain Res* 963:101-112.
- Leh SE, Mullen KT, Ptito A. 2006. Absence of S-cone input in human blindsight following hemispherectomy. *Eur J Neurosci*. 24:2954-60.
- Lin CS, Kaas JH. 1979. The inferior pulvinar complex in owl monkeys: architectonic subdivisions and patterns of input from the superior colliculus and subdivisions of visual cortex. *J Comp Neurol*. 187:655-78.
- Lin CS, Kaas JH. 1980. Projections from the medial nucleus of the inferior pulvinar complex to the middle temporal area of the visual cortex. *Neuroscience*. 5:2219-28.
- Lin CS, May PJ, Hall WC. 1984. Nonintralaminar thalamostriatal projections in the gray squirrel (*Sciurus carolinensis*) and tree shrew (*Tupaia glis*). *J Comp Neurol*. 230:33-46.
- Lin CS, Wagor E, Kaas JH. 1974. Projections from the pulvinar to the middle temporal visual area (MT) in the owl monkey, *Aotus trivirgatus*. *Brain Res*. 76:145-9.
- Lugo-Garcia N, Kiehliter E. 1987. Superior colliculus efferents to five subcortical visual system structures in the ground squirrel. *Brain Res*. 426:131-41.
- Luksch H; Cox K; Karten HJ. 1998. Bottlebrush dendritic endings and large dendritic fields: motion-detecting neurons in the tectofugal pathway. *J Comp Neurol*. 396:399-414.

- Luppino G, Matelli M, Carey RG, Fitzpatrick D, Diamond IT. 1988. New view of the organization of the pulvinar nucleus in *Tupaia* as revealed by tectopulvinar and pulvinar-cortical projections. *J Comp Neurol*. 273:67-86.
- Major DE; Luksch H; Karten HJ. 2000. Bottlebrush dendritic endings and large dendritic fields: motion-detecting neurons in the mammalian tectum. *J Comp Neurol* 423:243-60.
- Mathers LH. 1971. Tectal projection to the posterior thalamus of the squirrel monkey. *Brain Res*. 35:295-8.
- Marin G; Henny P; Letelier 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 Neuroscience Methods* 106:121-129
- Marin G; Letelier JC; Henny P; Sentis E; Farfan G; Fredes T; Pohl N; Karten HJ, Mpodozis J. 2003. Spatial organization of the pigeon tectorotundal pathway: an interdigitating topographic arrangement. *J Comp Neurol* 458:361-380.
- Martinez-de-la-Torre M; Martinez S; Puelles L. 1990. Acetylcholinesterase-histochemical differential staining of subdivisions within nucleus rotundus in the chick. *Anat Embryol* 181:129-135.
- Mathers LH. 1971. Tectal projection to the posterior thalamus of the squirrel monkey. *Brain Res*. 35:295-8.
- Michael CR. 1972. Visual receptive fields of single neurons in superior colliculus of the ground squirrel. *J Neurophysiol*. 35:815-32.
- Michael CR. 1973. Opponent-color and opponent-contrast cells in lateral geniculate nucleus of the ground squirrel. *J Neurophysiology* 31:221-236.
- Mission JP; Austin CP; Takahashi T; Cepko CL; Caviness CSJ. 1991. The alignment of migrating neural cells in relation to murine neopallial radial glial fiber system. *Cereb Cortex* 1:221-229.
- Mpodozis J; Letelier JC; Concha ML; Maturana H. 1995. Conduction velocity groups in the retino tectal and the retino thalamic pathways in the pigeon (*Columba livia*). *Int J Neurosci* 81:123-126.
- Mpodozis J; Cox K; Shimizu T; Bischof HJ; Woodson W; Karten HJ. 1996. GABAergic inputs to the nucleus rotundus (pulvinar inferior) of the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 374:204-222.

- Mpodozis J, Letelier JC, Concha ML, Maturana H. 1995. Conduction velocity groups in the retino-tectal and retino-thalamic visual pathways of the pigeon (*Columba livia*). *Int J Neurosci*. 81:123-36.
- Moschovakis AK, Karabelas AB, Highstein SM. 1988. Structure-function relationships in the primate superior colliculus. I. Morphological classification of efferent neurons. *J Neurophysiol*. 60:232-62.
- Neary TJ. 1990. The pallium of anuran amphibians. In Jones EG; Peters A, editors. *Cerebral Cortex*, Vol. 8A. New York: plenum, pp. 107-138.
- Ngo TD; Davies DC; Egedi GY; Tombol T. 1994. A phaseolus lectin anterograde tracing study of the tectorotundal projections in the domestic chick. *J Anat* 184:129-136.
- Nguyen AP; Spetch ML; Crowder NA; Winship IR; Hurd PL; Wylie DRW. 2004. A dissociation of spatial-pattern vision in the avian telencephalon: implications for the evolution of "visual streams". *J Neurosci* 24:4962-4970.
- Nieuwenhuys R; Ten Donkelaar HJ; Nicholson C. 1998. *The Central Nervous System of Vertebrates*. Springer-Verlag. Volumes I, II and III.
- Nieuwenhuys R. 1994b. The neocortex: an overview of its evolutionary development, structural organization and synaptology. *Anat Embriol* 190:307-337.
- Nixdorf BE & Bischof HJ. 1982. Afferent connection of the ectostriatum and visual wulst in the zebra finch (*Taenopygia guttata castonotis* Gould): an HRP study. *Brain Res* 248:9-17.
- Northcutt RG. 1981. Evolution of the telencephalon in nonmammals. *Annu Rev Neurosci* 4:301-350.
- Northcutt RG. 1995. The forebrain of gnathostomes: in search of a morphotype. *Brain Behav Evol* 46:275-318.
- Ogawa T & Takahashi Y. 1981. Retinotectal connectivities within the superficial layers of the cat's superior colliculus. *Brain Res* 217:1-12.
- Palmer LA, Rosenquist AC. 1974. Visual receptive fields of single striate cortical units projecting to the superior colliculus in the cat. *Brain Res*. 67:27-42.

- Pritz MB, 1974. Ascending connections of a thalamic auditory area in a crocodile, Caiman crocodiles. *J Comp Neurol* 153:199-214.
- Pritz MB. 1975. Anatomical identification of a telencephalic visual area in crocodiles: ascending connections of nucleus rotundus in Caiman crocodilus. *J Comp Neurol*. 164:323-38.
- Pritz MB & Stritzel ME, 1992. A second auditory area in the non-cortical telencephalon of a reptile. *Brain Res* 569:146-151.
- Ptito M, Herbin M, Boire D, Ptito A. 1996. Neural bases of residual vision in hemicorticectomized monkeys. *Prog Brain Res*. 112:385-404.
- Ptito A, Leh SE. 2007. Neural substrates of blindsight after hemispherectomy. *Neuroscientist*. 13:506-18.
- Puelles L; Kuwana E; Puelles E; Bulfone A; Shimamura K; Keleher J; Smiga S; and Rubenstein JLR. 2000. Pallial and subpallial derivatives in the embryonic chick and mouse telencephalon, traced by the expression of the genes *Dlx-2*, *Emx-1*, *Nkx2.1*, *Pax-6* and *Trb-1*. *J Comp Neurol* 424:409-438.
- Raczkowski D, Diamond IT. 1978. Cells of origin of several efferent pathways from the superior colliculus in *Galago senegalensis*. *Brain Res*.146:351-7.
- Rainey WT, Ulinski PS. 1982. Organization of nucleus rotundus, a tectofugal thalamic nucleus in turtles. III. The tectorotundal projection. *J Comp Neurol*. 209:208-23.
- Ramon y Cajal S. 1911. *Histologie de systeme nerveaux de l'homme et de vertebres*. Paris: Maloine.
- Redies C, Ast M, Nakgawa S, Takeichi M, Martinez-de-la-Torre M, Puelles L. 2000. Morphological fate of diencephalic prosomeres and their subdivisions revealed by mapping cadherin expression. *J Comp Neurol* 421:481-514.
- 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; Güntürkün O; Lee DW; Mello CV; Powers A; White AS; Hough Gerald; 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. *J Comp Neurol*. 473:377-414.

- Reiner A; Karten HJ. 1982. Laminar distribution of the cells of origin of the descending tectofugal pathways in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 204:165-187.
- Reperant J; Angaut P. 1977. The retinotectal projections in the pigeon: an experimental optical and electron microscope study. *Neuroscience*. 2:119-40.
- Revzin AM. 1970. Some characteristics of wide-field units in the brain of the pigeon. *Brain Behav Evol* 3:195-204.
- Revzin AM. 1979. Functional localization in the nucleus rotundus. In: Granda AM, Maxwell JH, editors. *Neural mechanisms of behavior in the pigeon*. New York: Plenum Press. p 175-200.
- Rivera N, Lugo N. 1998. Four retinal ganglion cell types that project to the superior colliculus in the thirteen-lined ground squirrel (*Spermophilus tridecemlineatus*). *J Comp Neurol*. 396:105-20.
- Robson JA, Hall WC. 1976. Projections from the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus of the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) *Brain Res*. 113:379-85.
- Robson JA, Hall WC. 1977. The organization of the pulvinar in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*). I. Cytoarchitecture and connections. *J Comp Neurol*. 173:355-88.
- Rodman HR, Gross CG, Albright TD. 1989. Afferent basis of visual response properties in area MT of the macaque. I. Effects of striate cortex removal. *J Neurosci*. 9:2033-50.
- Rodman HR, Gross CG, Albright TD. 1990. Afferent basis of visual response properties in area MT of the macaque. II. Effects of superior colliculus removal. *J Neurosci*. 10:1154-64.
- Romer AS. 1960. *The vertebrate body*. Second edition. WB Saunders Company Editors. Pp. 580.
- Rosa MG. 1999. Topographic organisation of extrastriate areas in the flying fox: implications for the evolution of mammalian visual cortex. *J Comp Neurol*. 411:503-23.
- Rosa MG; Krubitzer LA. 1999. The evolution of visual cortex: where is V2? *Trends Neurosci*. 22:242-8.
- Schiller PH, Malpeli JG. 1977. Properties and tectal projections of monkey retinal ganglion cells. *J Neurophysiol*. 40:428-45.

- Schiller PH, Koerner F. 1971. Discharge characteristics of single units in superior colliculus of the alert rhesus monkey. *J Neurophysiol.* 34:920-36.
- Schmidt A, Bischof HJ. 2001. Neurons with complex receptive fields in the stratum griseum centrais of the zebra finch (*Taenopygia guttata castonotis* Gould) optic tectum. *J Comp Physiol A*187:913-924.
- Shimizu T, Cox K, Karten HJ, Britto LRG. 1994. Cholera toxin mapping of retinal projections in pigeons (*Columba livia*), with emphasis on retino hypothalamic projections. *Vis Neurosci* 11:441-446.
- Shimizu T, Karten HJ. 1993. The avian visual system and the evolution of the neocortex. In: Ziegler HP, Bischof HJ, editors. *Vision brain and behavior in birds*. Cambridge, MA: MIT Press. p 103-114.
- Smeets WJ, Marín O, González A. Evolution of the basal ganglia: new perspectives through a comparative approach. *J Anat.* 196:501-17.
- Smith-Fernandez A; Pieau C; Reperant J; Boncinelli E; Wassef M. 1998. Expression of *Emx-1* and *Dlx-1* homeobox genes define three molecularly distinct domains in the telencephalon of mouse, turtle and a frog embryos, implications for the evolution of telencephalic subdivisions in amniotes. *Development* 125:2099-2111.
- Snyder M & Diamond IT. 1968. Organization and function of cortex in Tree shrew. *Brain Behavior and Evolution* 1:244-288.
- Stepniewska I, Qi HX, Kaas JH. 1999. Do superior colliculus projection zones in the inferior pulvinar project to MT in primates? *Eur J Neurosci.* 11:469-80.
- Striedter GF & Beydler S. 1997. Distribution of radial glia in the developing telencephalon of chicks. *J Comp Neurol* 387:399-420.
- Striedter GF, 2005. Principles of brain evolution. Sinauer associates pp. 153.
- Tanaka K, Hikosaka K, Saito H, Yukie M, Fukada Y, Iwai E. 1986. Analysis of local and wide-field movements in the superior temporal visual areas of the macaque monkey. *J Neurosci.* 6:134-44.
- Tanaka K, Hikosaka K, Saito H, Yukie M, Fukada Y, Iwai E. 1986. Analysis of local and wide-field movements in the superior temporal visual areas of the macaque monkey. *J Neurosci.* 6:134-44.

- Thanos S. 1988. Morphology of ganglion cell dendrites in the albino rat retina: an analysis with fluorescent carbocyanine dyes. *J Hirnforsch.* 29:617-31.
- Tömböl T. 1991. Arborization of afferent fibers in ectostriatum centrale. Golgi study. *J Hirnforsch.* 32:563-75.
- Tömböl T, Egedi G, Németh A. 1993. EM study on Phaseolus vulgaris lectin labelled terminals of rotundal fibers and on GABA immunogold stained structures in chicken ectostriatum centrale. *J Hirnforsch* 34:517-37.
- Tömböl T, Magloczky Zs, Stewart MG, Csillag A. 1988. The structure of chicken ectostriatum. I. Golgy study. *J Hirnforsch* 29:525-546.
- Trojanowski JO, Jacobson S. 1975. Peroxidase labeled subcortical afferents to pulvinar in rhesus monkey. *Brain Res.* 97:144-50.
- Ueki K. 1966. Hemispherectomy in the human with special reference to the preservation of function. *Prog Brain Res* 21:285-338.
- Ulinski P. 1983. Dorsal ventricular ridge: a treatise on forebrain organization in reptiles and birds. New York: Wiley.
- Ulinski P. 1990. The cerebral cortex of reptiles. In: Jones, EG, Peters A., Editors. *Cerebral Cortex*, Vol. 8A. Part I. New York: plenum, pp 139-215.
- Van Hooser SD, Nelson SB. 2006. The squirrel as a rodent model of the human visual system. *Vis Neurosci.* 23:765-78.
- Wang Y, Frost BJ. 1992. Time to collision is signalled by neurons in the nucleus rotundus of pigeons. *Nature.* 356(6366):236-8.
- Wang YC, Jiang S, Frost B. 1993. Visual processing in pigeon nucleus rotundus: luminance, color, motion and looming subdivisions. *Vis-Neurosci* 10:21-30.
- Wassle H. & Illing RB. 1980. The retinal projection to the superior colliculus in the cat: a quantitative study with HRP. *J Comp Neurol* 190:333-346.
- Watanabe M, Ito H, Ikushima M. 1985. Cytoarchitecture and ultrastructure of the avian ectostriatum: afferent terminals from the dorsal telencephalon and some nuclei in the thalamus. *J Comp Neurol* 236:241-257.

- Ward JP & Masterton B. 1970. Encephalization and visual cortex in tree shrew (*Tupaia glis*). *Brain behavior and evolution* 3:421-469.
- Ware CB, Casagrande VA, Diamond IT. 1972. Does the acuity of the tree shrew suffer from removal of striate cortex? A commentary on the paper by Ward and Masterton. *Brain Behavior and Evolution* 5:18-29.
- Woodson W, Reiner A, Anderson K, Karten HJ. 1991. Distribution, laminar location, and morphology of tectal neurons projecting to the isthmo-optic nucleus and the nucleus isthmi, pars parvocellularis in the pigeon (*Columba livia*) and chick (*Gallus domesticus*): a retrograde labelling study. *J Comp Neurol.* 305:470-88.
- Wong P; Gharbawie O; Luethke LE; Kaas JH. 2008. Thalamic connections and architectonic subdivisions of temporal cortex in squirrels (*Sciurus carolinensis*). *J Comp Neurol.*
- Yamagata M, Sanes JR. 1995. Lamina-specific cues guide outgrowth and arborization of retinal axons in the optic tectum. *Development.* 121:189-200.