

**"Estudio ontogenético del  
establecimiento en la distribución de  
células ganglionares del  
*Octodon degus*"**

**Tesis**

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

**Magíster en Ciencias Biológicas**

**Facultad De Ciencias**

**Por**

**Rodrigo Andrés Dover Aburto**

**Enero, 2024**

**Director de Tesis**

**Dr. Jorge Mpodozis Marín**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACION**

**TESIS DE MAGÍSTER**

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

**Rodrigo Andrés Dover Aburto**

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 31 de octubre de 2023.

Director de Tesis:

Dr. Jorge Mpodozis Marín .....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Julio Alcayaga Urbina .....

Dra. Verónica Palma Alvarado .....

Dedicado a todas las personas que son parte de mi vida, que me han apoyado  
y con quienes he compartido pensamientos, risas y tazas de té.

Mención especial a mi amiga Celeste a quién recuerdo con cariño día a día.

*“Celeste, ¿con qué sueñan las libélulas?”*

*R.D.A.*

*“Somewhere, something incredible is waiting to be known.”*

*~ Carl Sagan*

## RESUMEN BIBLIOGRÁFICO



**Rodrigo Andrés Dover Aburto**

Nacido en la noche de un lunes 12 de octubre de 1992 en Santiago de Chile. Desde pequeño ha sido curioso por el conocimiento y la naturaleza. Su niñez se vio marcada por sus veranos en Valdivia, donde recorrió el campo y conoció la selva valdiviana. Además de sus tardes apasionadas viendo documentales de ciencia y visitas ocasionales al Museo Nacional de Historia Natural. Su íntima infancia lo hizo rodearse de libros y lo llevo a considerarlos su espacio seguro, lo cual sigue hasta el día de hoy.

Durante su enseñanza media inició su interés por la biología y la ciencia ficción, lo que lo llevaría el 2011 a entrar a la carrera de Licenciatura en Biología en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Después de varios años, comenzó a explorar la neurociencia, la que se convirtió en su fascinación y le permitió llegar al Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, en donde conoció a sus mentores, a sus amistades más importantes, y en donde ha ampliado su visión sobre la neurociencia y la biología de sistemas.

Actualmente se dedica a estudiar el sistema visual, y también tiene intereses en neurociencia, la docencia universitaria en biología, divulgación científica, filosofía de la biología, educación sexual integral, activismo LGBTQ+ en STEM y política científica.

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se ha realizado después de un largo camino que comenzó allá por 2019, razón por la cual han existido distintas personas que, de una u otra manera, han sido parte importante en esto y que merecen estar mencionadas aquí.

En primer lugar quisiera agradecer a mi familia: a mi madre Tity Aburto, mis hermanas Paola Dover e Ingrid Dover, y mi tía Ema Aburto. Agradezco mucho el cariño que me han dado estos años, y a pesar de todos los altibajos que hemos pasado como familia, créanme que las quiero a mi manera y agradezco lo que han hecho por mí.

También quisiera agradecer a mi nicho cercano, ya que esta tesis no habría sido sacada adelante si no fuera por el cariño y compañía de mis amigas y colegas Isidora Valdebenito y Scarlett Delgado. Gracias a ustedes tuve mi segundo aire para llegar hasta aquí, y les agradezco mucho todo lo que hemos aprendido y recorrido juntos. Además de todos los tecitos, galletas, muffins y tartaletas que hemos compartido en estos años. Las quiero un montón y sigamos adelante.

Quisiera agradecer a mi amigo y confidente, Camilo Provoste, por acompañarme en mis días más difíciles y oscuros, y ser la voz de la razón en las dificultades. Eres el Calcifer de mi vida. Gracias a ti siento que soy una mejor persona, ya que hemos aprendido mucho juntos y compartimos muchas cosas en común. Gracias por todo lo que has hecho por mí, inclusive echándome porras desde Copiapó. Te quiero mucho amigo.

Además, quiero agradecer a mi amigo Leandro Valenzuela, quién me ha acompañado en más de una noche tras la pantalla y nos hemos apoyado mucho estos años. Aunque te culpo por enseñarme Genshin Impact y darme motivos para procrastinar. Así también, agradecer a María Fernanda Silva por alegrarme los días con sus ocurrencias y apoyarme siempre. Gracias por los dibujos de los degús que te quedaron bellísimos. Tienes un talento maravilloso. A mi amigo Ricardo Hartley, quién siempre ha tenido las palabras adecuadas cuando he estado en mis días nublados y quién me ayudó a darle la pelea a R Studio. Gracias por todo lo que has hecho por mí.

En lo académico quisiera agradecer a mi tutor, Jorge Mpodozis, por ser parte de mi formación académica, y por enseñarme a ver a los seres vivos y la vida desde otro enfoque durante estos años. Te estimo mucho, aunque creas que soy latero cuando escribo y pienses que soy reduccionista. A Juan Carlos Letelier por tu constante apoyo, consejos y creer en mí cuando me aflige el Síndrome del Impostor. A Gonzalo Marín por tus consejos, sabiduría y ayuda cuando he caído

en la incertidumbre.

No puedo dejar de agradecerle a Elisa Sentis y a Solano Henríquez. Sin su apoyo técnico y consejos de la vida posiblemente las cosas serían distintas. También, agradecer a todo el Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer: Máximo Fernández, Daniela Flores, Alfonso Deichler, Macarena Ruiz, Maricel Quispe y tantos otros que me han aconsejado y ayudado de alguna u otra manera en la realización de esta tesis. Perdón si me olvido de alguien.

A Alexandra Elbakyan por darle alas al conocimiento a través de un cuervo negro con una llave roja en su pico.

Y a Celeste Álvarez que me acompaña siempre, estés donde estés amiga mía.

Esta tesis fue realizada gracias a financiamiento del Fondecyt 1210169 de Gonzalo Marín y el Fondecyt 1210069 de Jorge Mpodozis.

# ÍNDICE DE MATERIAS

<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b> .....	<b>4</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>7</b>
3.1 Origen, organización y estructura de la retina .....	7
3.2 Especializaciones retinianas.....	15
3.3 Relación entre la distribución topográfica de la CGR con el modo de vida .....	16
3.4 Desarrollo de las especializaciones retinianas.....	21
3.5 El problema.....	22
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>24</b>
4.1 Objetivo general.....	24
4.2 Objetivo específico I .....	24
4.3 Objetivo específico II .....	24
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
5.1 Animales. ....	25
5.2 Preparación de las retinas. ....	25
5.3 Conteo de células de la CCG y generación de mapas de isodensidad. ....	26
5.4 Tamaño de células y análisis de los vecinos más cercanos (NND).....	28
5.5 Estadística .....	29
<b>6. RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
6.1 Topografía y especializaciones retinianas.....	31
6.1.1 Área de la retina y estimaciones del número total de células en la Capa de Células Ganglionares .....	31
6.1.2 Especializaciones retinianas y densidad de células en la Capa de Células Ganglionares .....	35
6.1.3 Tamaños celulares y distancia de los vecinos más cercanos .....	48
6.1.4 Análisis estadístico .....	55
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	<b>61</b>
7.1 Análisis de los mapas topográficos .....	61
7.2 Especializaciones retinianas y densidad de la CCG .....	64
7.3 Tamaños celulares y distancias de los vecinos más cercanos .....	67
7.4 Características de la ontogenia en la retina del <i>Octodon degus</i> .....	70
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	<b>73</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>74</b>
<b>10. ANEXO</b> .....	<b>82</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema del desarrollo de la copa óptica en los vertebrados. ....	8
<b>Figura 2.</b> Capas de la retina en mamíferos. ....	10
<b>Figura 3.</b> Corte histológico de una retina que muestra las distintas capas presentes en la retina de los vertebrados. ....	11
<b>Figura 4.</b> Diferentes topografías de CGR en distintos hábitats. ....	19
<b>Figura 5.</b> Diferencias en los mapas topográficos de distintos roedores. ....	20
<b>Figura 6.</b> Planteamiento del problema. ....	23
<b>Figura 7.</b> Ajuste no lineal de crecimiento del área de la retina promedio del <i>Octodon degus</i> en función de la edad. ....	33
<b>Figura 8.</b> Número promedio de células totales en la CCG en función del estadio del desarrollo. ....	34
<b>Figura 9.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 02 posnatal (P02).....	38
<b>Figura 10.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 04 posnatal (P04).....	39
<b>Figura 11.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 08 posnatal (P08).....	40
<b>Figura 12.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 09 posnatal (P09).....	41
<b>Figura 13.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 13 posnatal (P13).....	42
<b>Figura 14.</b> Mapas de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en los días 14 y 15 posnatal (P14 y P15).....	43
<b>Figura 15.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 30 posnatal (P30).....	44
<b>Figura 16.</b> Mapa de isodensidad de la retina del <i>Octodon degus</i> en el día 31 posnatal (P31).....	45
<b>Figura 17.</b> Mapas de isodensidad de las retinas de <i>Octodon degus</i> de dos adultos. ....	46
<b>Figura 18.</b> Variación en la densidad de células en la CCG durante la ontogenia. ....	48
<b>Figura 19.</b> Cortes en transverso de retinas en distintos estadios del desarrollo del <i>Octodon degus</i> . ....	49
<b>Figura 20.</b> Capa de Células Ganglionares de diferentes estadios del desarrollo	



del <i>Octodon degus</i> en las zonas de mayor densidad de las distintas retinas. . .	50
<b>Figura 21.</b> Diferencias de tamaño de las células de la CCG en función de los distintos estadios del <i>Octodon degus</i> en las zonas de menor y mayor densidad de las retinas.....	52
<b>Figura 22.</b> Gráficos de frecuencias de las distintas CGR que hay en la CCG en retinas de distintos estadios del <i>Octodon degus</i> en la periferia y cercano al centro de la retina. ....	53
<b>Figura 23.</b> Aumentos de tamaños durante la ontogenia.....	53
<b>Figura 24.</b> Distancias del vecino más cercano (NND) en las zonas de mayor y menor densidad de las retinas durante su ontogenia. ....	54
<b>Figura 25.</b> Aumentos de la distancia del vecino más cercano durante la ontogenia. ....	55
<b>Figura 26.</b> Resumen de los eventos más importante en el desarrollo y aparición de especializaciones retinianas del <i>Octodon degus</i> . ....	72

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Parámetros experimentales desde el <i>Optical Fractionator</i> del Programa StereInvestigator.....	27
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de los valores ajustados para el modelo de crecimiento del área de la retina del <i>Octodon degus</i> .....	33
<b>Tabla 3.</b> Parámetros de los valores ajustados para la curva de densidad de células en la CCG de la retina del <i>Octodon degus</i> . ....	48
<b>Tabla 4.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el número de células en la CCG.....	56
<b>Tabla 5.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los grupos 2, 3, 4, 5 y 6 de la variable número total de células en la CCG. ....	57
<b>Tabla 6.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el tamaño de las células de la CCG en el centro de la retina. ....	58
<b>Tabla 7.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los distintos grupos en el tamaño de las células en la CCG en el centro de la retina.....	58
<b>Tabla 8.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el tamaño de las células de la CCG en la periferia de la retina. ....	59
<b>Tabla 9.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los distintos grupos en el tamaño de las células en la CCG en la periferia de la retina.....	59
<b>Tabla 10.</b> Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Mann-Whitney para comparar los distintos grupos entre el centro y la periferia de la retina. ....	60
<b>Tabla 11.</b> Datos estereológicos del número total de células en la Capa de Células Ganglionares (CCG) obtenidos a partir de software StereInvestigator para los distintos estadios del <i>Octodon degus</i> .....	82

## LISTA DE SÍMBOLOS/ABREVIATURAS

CAd	Células Amacrinas Desplazadas
CCG	Capa de Células Ganglionares
CGR	Células Ganglionares Retinianas
CNE	Capa Nuclear Externa
CNI	Capa Nuclear Interna
CPE	Capa Plexiforme Externa
CPI	Capa Plexiforme Interna
D	Dorsal
FR	Fotorreceptores
KW	Kruskal-Wallis
N	Nasal
NND	Distancia del vecino más cercano
PBS	Solución de buffer fosfato
PFA	Paraformaldehído
RIC	Rango intercuartílico
T	Temporal
V	Ventral

# 1. RESUMEN

La retina corresponde a una extensión sensorial del cerebro, el cual les permite a los vertebrados mapear los estímulos visuales del mundo que los rodea. Este tejido está organizado en distintas capas que comprenden diversos tipos celulares, en las que destacan los fotorreceptores y las células ganglionares retinianas. Esta estructura es altamente conservada en términos evolutivos, tanto a nivel de su organización celular como de sus proyecciones centrales.

Un aspecto interesante de la morfología retiniana es que la distribución de las células ganglionares no es homogénea, sino presenta especializaciones, tales como el área centralis, o la banda visual horizontal, cuyo tamaño y posición está estrechamente relacionada con el modo de vida del animal y su ecología visual. Estas especializaciones retinianas, que se distinguen como zonas de mayor densidad celular, están presentes en todas las retinas en el linaje de los vertebrados.

Uno de los problemas no resueltos en la literatura es entender el cómo se forman estas especializaciones durante la ontogenia. Para esto se propuso estudiar al *Octodon degus* (degú), el cual es un roedor diurno de la familia *Octodontidae*, que presenta ventajas tales como su precocidad (nace con los ojos abiertos), su alta actividad visual, su alta capacidad social y con hábitos diurnos/crepusculares. En esta tesis se describirán y contrastarán los cambios

que ocurren en la distribución de células de la capa de células ganglionares a nivel postnatal, con el objetivo de establecer las variaciones que ocurren durante la ontogenia en la retina del degú.

Los resultados muestran que, en etapas tempranas del desarrollo, la retina del degú presenta una distribución homogénea de células, siendo el estadio P02 el de mayor densidad celular, con un número total de 895.368 células en un área de 39,38 mm<sup>2</sup>. Durante la primera semana del desarrollo, este número de células cae a un promedio de 298.908 células y su área aumenta a 48,35 mm<sup>2</sup> aproximadamente. Además, comienza a establecerse un gradiente ventro-dorsal.

En el primer momento en el que se logra establecerse las especializaciones retinianas es durante el estadio P08/P09, en el cual aparece una banda visual en el eje naso-temporal y un área centralis en la mitad temporal, además de definirse más el gradiente ventro-dorsal previamente descrito. Durante el primer mes de vida, el número de células se mantiene con un promedio de 303.597 células y el área aumenta a 62,05 mm<sup>2</sup>, resultando en la disminución de la densidad celular. Además, las especializaciones se definen más, refinándose el área que forma la banda visual. En el adulto, la banda visual está totalmente formada, con un área centralis hacia temporal definida y un gradiente ventro-dorsal más definido.

Por otro lado, al medir los tamaños celulares durante la ontogenia se pueden observar que las células localizadas en la periferia de la retina presentan un mayor tamaño que aquellas que se ubican hacia el centro. Así mismo se van generando distintas poblaciones de CGR durante el desarrollo. Así mismo, al

evaluar la distancia entre las células durante la ontogenia en la periferia y el centro de la retina, se puede observar la tendencia de que a medida que aumenta el área de la retina aumenta la separación entre las células. Este fenómeno se observa más marcado en la periferia que en el centro y da cuenta de la expansión diferencial que ocurre en la retina.

Estos resultados demuestran el complejo proceso por el cual se desarrolla la retina del degú durante el período postnatal, en el cual el número de células de la capa de células ganglionares disminuye, mientras el tamaño de las células aumenta junto con el aumento progresivo del área de la retina. Con esto se puede concluir que este crecimiento asimétrico, dado por estos factores, contribuye a la aparición de las especializaciones retinianas en el degú.

## 2. ABSTRACT

The retina corresponds to a sensory extension of the brain, which allows vertebrates to map visual stimuli from the surrounding world. This tissue is organized in different layers including various cell types, among which photoreceptors and retinal ganglion cells are central. This structure is highly conserved in evolutionary terms, both in its organization and its central projections.

As animals have diverse visual experiences associated with their lifestyles and interaction with their environment, different retinal configurations are generated on the retina throughout the vertebrate lineage. Consequently, this great diversity generates different retinal specializations, such as the area centralis and the visual streak, which are portions of the retina with a high density of cellular components that provide high visual resolution of environmental aspects.

An interesting aspect of retinal morphology is that the distribution of retinal ganglion cells is not homogeneous, but presents retinal specializations, such as the area centralis, or the horizontal visual streak, whose size and position is closely related to the animal's lifestyle and visual ecology. These retinal specializations, which are distinguished as areas of higher cell density, are present in all the vertebrate lineage.

One of the unresolved problems in the literature is to understand how these

specializations are formed during ontogeny. For this purpose, we proposed to study the *Octodon degus* (degú), which is a diurnal rodent of the family *Octodontidae*, with advantages such as precocity (it is born with its eyes open), high visual activity, and high social abilities and diurnal/crepuscular habits. In this thesis we propose to describe and contrast the changes that occur in the distribution of cells of the ganglion layer at the postnatal level, with the objective of establishing the variations that occurs during ontogeny in the retina of degú.

The results show that in early stages of development the degú retina presents a homogeneous distribution of cells, being at stage P02 the higher number of cells in the ganglion layer with a total of 895.368 cells, and an area of 39,38 mm<sup>2</sup>. During the first week of development, the number of cells drops to an average of 298.908 cells and the area increases to approximately 48,35 mm<sup>2</sup>. In addition, a ventro-dorsal gradient begins to be established.

The first time that retinal specializations are observed is during the P08/P09 stage, in which a visual streak appears at the center of the naso-temporal axis and a central area at the temporal half, besides the previously described ventro-dorsal gradient becomes more defined. Afterwards, during the first month after birth, the number of cells is maintained with an average of 303.597 cells and the area increases to 62,05 mm<sup>2</sup>, resulting in a decrease of the cell density. In addition, the specializations become even more defined, refining the area forming the visual streak. In the adult, the visual streak is fully defined, and the central area is easily delimited, besides, the ventro-dorsal gradient is more marked.



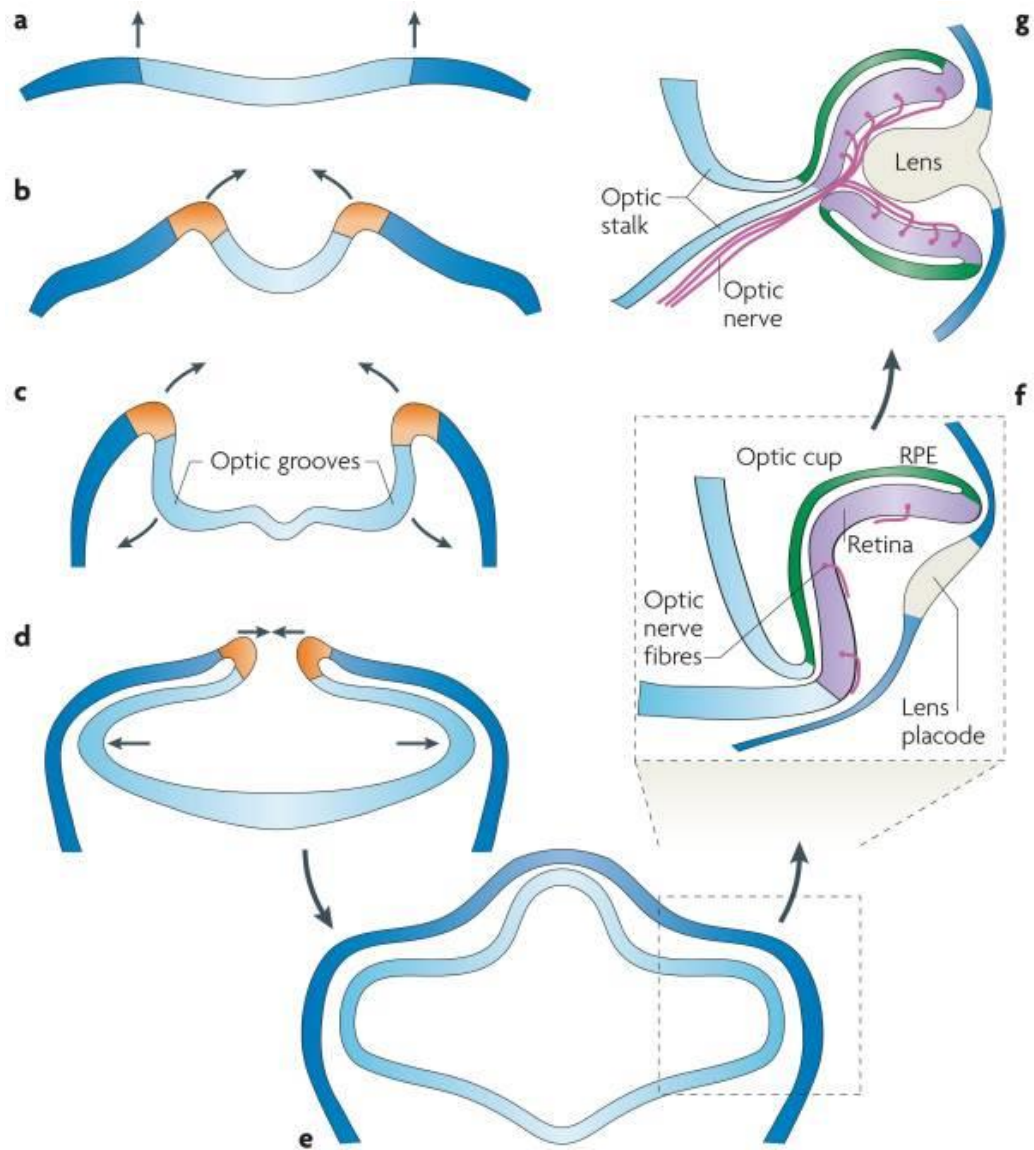
However, when measuring cell sizes during ontogeny, it can be observed that cells located in the periphery of retina are larger than those located towards the center. Likewise, different RGC populations are generated during development. Moreover, when evaluating the distance between cells during ontogeny in the periphery and center of the retina, it can be observed the tendency that as the retinal area increases, the separation between cells increases. This phenomenon is more marked in the periphery than in the center and accounts for the differential expansion that occurs in the retina.

These results demonstrate the complex process by which the degu retina develops during the postnatal period, in which the number of cells in the ganglion cell layer decreases, while the size of the cells increases along with the progressive increase of the retinal area. It can be concluded that this asymmetric growth, given by these factors, contributes to the appearance of retinal specializations in the degu.

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.1 Origen, organización y estructura de la retina**

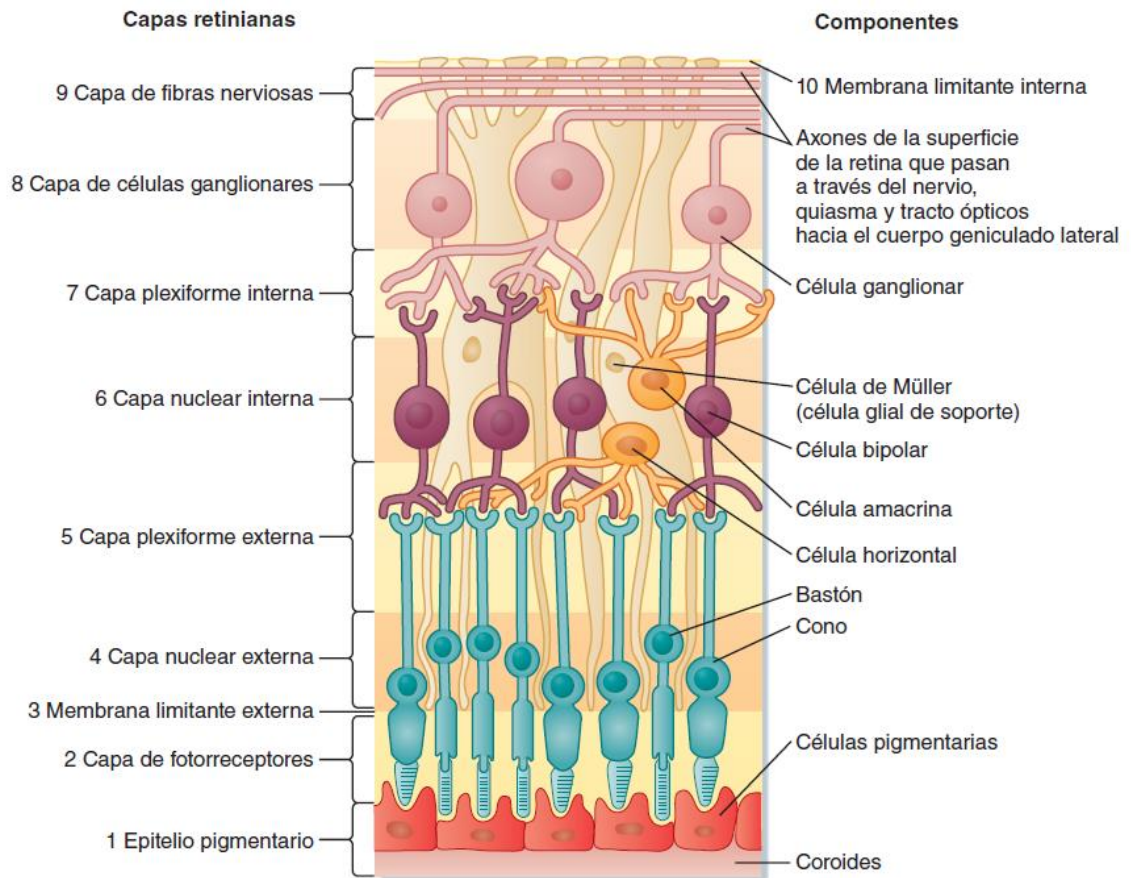
Durante la neurulación, proceso en el cual se forma el tubo neural y el sistema nervioso, se forma la retina. Esto sucede cuando se cierra el tubo neural hacia anterior en donde se forman los surcos ópticos a cada lado de la placa neural como una depresión del tejido (Gilbert, 2014). Tras la fusión de los pliegues neurales, los surcos ópticos quedan ubicados a nivel del prosencéfalo y, posteriormente, debido a una evaginación del tejido se forman las vesículas ópticas que quedan unidas a la misma vesícula cerebral. A medida que las vesículas ópticas se expanden, estas se proyectan hacia el ectodermo superficial y son rodeadas por mesénquima. Esto genera cambios en ambos tejidos, e induce al ectodermo superficial a engrosarse y formar la placoda del cristalino, la cual se invagina y da lugar a la copa óptica (en la que se desarrollará la retina), el lente y el agujero del lente (Figura 1) (Lamb et al., 2007). Al mismo tiempo, la conexión existente entre la copa óptica con el prosencéfalo se adelgaza y forma el pedúnculo óptico. En la copa óptica se segregarán dos capas: la más interna y que se orienta hacia el cristalino formará el neuroepitelio retiniano, mientras que la capa externa de formará el epitelio pigmentario de la retina (EPR) (Chow & Lang, 2001; Koenig & Gross, 2020).



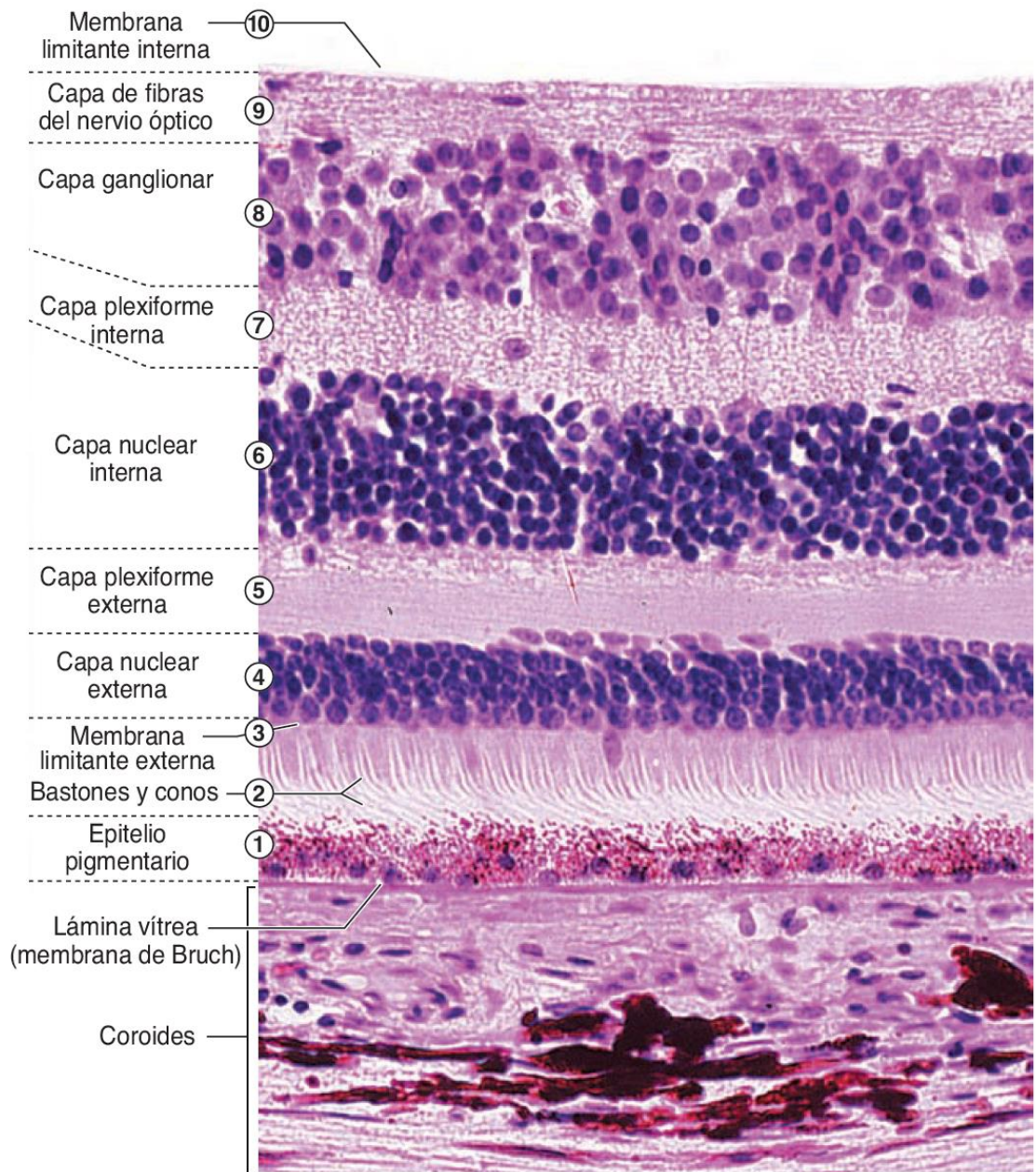
**Figura 1. Esquema del desarrollo de la copa óptica en los vertebrados.** En la imagen se muestra la secuencia de la formación de la copa óptica. En (a) y (b) se muestra el cómo se levanta la placa del techo durante la neurulación, en (c) se observa cómo se invaginan las vesículas ópticas, mientras que en (d) se cierra el tubo neural en la parte dorsal. Mientras que las imágenes en (e), (f) y (g) muestran el cómo se induce la formación de la copa óptica a partir de la placoda del lente la cual se ubica en el diencéfalo (Tomado de Lamb et al. (2007)).

Los elementos celulares que originan a la retina se desarrollan a partir de una monocapa de epitelio pseudoestratificado, la cual va madurando y transformándose en un epitelio de múltiples capas en los animales adultos (Wong & Godinho, 2003). Esta estructura es altamente conservada a lo largo de la evolución de los vertebrados, tanto a nivel de su organización celular, así como de sus proyecciones centrales (Voogd, et al., 1998).

La retina adulta se conforma por un epitelio pseudoestratificado conformada por 6 clases de neuronas que están dispuestas en 3 capas nucleares (donde se ubican los somas) y 2 capas plexiformes o sinápticas (donde se ubican los neuropilos) (Baden et al., 2020). En las capas nucleares podemos encontrar la presencia de fotorreceptores (conos y bastones), células horizontales, células bipolares, células interplexiformes, células amacrinas y células ganglionares, mientras que en las capas plexiformes podemos encontrar la presencia de las conexiones que realizan las células horizontales, las cuales modulan la sinapsis entre los fotorreceptores con las células bipolares, y las células amacrinas y plexiformes, las que modulan la sinapsis entre células bipolares y células ganglionares (Figuras 2 y 3). También podemos encontrar una célula glial conocida como célula de Müller que mantiene la estabilidad estructural y funcional del tejido.



**Figura 2. Capas de la retina en mamíferos.** En este esquema podemos distinguir los distintos tipos celulares y capas que conforman la retina en mamíferos: fotorreceptores, células bipolares, células horizontales, células amacrinas y células ganglionares. La luz que ingresa al ojo viene desde arriba (Koeppen & Staton, 2018).



**Figura 3. Corte histológico de una retina que muestra las distintas capas presentes en la retina de los vertebrados.** En esta es posible distinguir claramente las diferencias entre las capas nucleares y las capas plexiformes (Modificado de Ross & Pawlina, 2015).

Desde la parte externa a la interna del ojo podemos encontrar el epitelio pigmentado de la retina (EPR), el cual absorbe la luz e impide su reflexión, contiguo a este encontramos a los fotorreceptores que se dividen en sus segmentos externos e internos. Estas células excitables se dividen en conos y bastones, siendo los conos aquellas células con una alta resolución espacial pero relativamente insensibles a la intensidad de la luz, también permitiendo la visión cromática durante el día; y los bastones que son aquellas células que poseen una baja resolución espacial pero que permiten la visión en oscuridad o en condiciones de baja intensidad lumínica (Purves, 2018).

Después de la capa nuclear externa de fotorreceptores, donde se ubican sus somas, encontramos la capa plexiforme externa donde los fotorreceptores realizan sinapsis con las células bipolares y las células horizontales. Posteriormente, encontramos la capa nuclear interna donde se ubican los somas de las células bipolares, horizontales, interplexiformes y amacrinas. Las células bipolares hacen sinapsis con las células ganglionares y las amacrinas en la capa plexiforme interna. Las células ganglionares de la retina tienen sus somas en la capa de células ganglionares y son estas las que generan el nervio óptico el cual proyecta a diversos objetivos retinorecipientes (Figuras 2 y 3) (Masland, 2012; Kolb et al., 2001).

En términos de organización sináptica, la retina posee dos importantes patrones de conectividad sináptica: el circuito vertical y el circuito horizontal. El circuito vertical, conformado por los fotorreceptores, células bipolares y células ganglionares, está relacionado con la regulación del nivel de excitación/inhibición

que depende de la intensidad lumínica y libera glutamato; el circuito horizontal está relacionado con las células horizontales y amacrinas que se conectan lateralmente para proveer *feedbacks* y *feedforwards* entre fotorreceptores y células bipolares (en el caso de las células horizontales) y entre células bipolares y células ganglionares (en el caso de las células amacrinas) (Diamond, 2017).

A nivel evolutivo, los fotorreceptores de los mamíferos evolucionaron a partir de ancestros terápsidos, donde existían pigmentos basados en la vitamina A1 y cuyo rango de sensibilidad estaba entre longitudes de onda de 409 – 568 nm. La retina también se había especializado en tener una gran cantidad de bastones, con pocas diferencias en la topografía de esta, desde el centro a la periferia, lo cual puede ser ejemplificado mediante los roedores e insectívoros actuales. Debido a que los mamíferos primitivos eran nocturnos o fosoriales, la mayoría del grupo ha conservado estas características. Aquellos que pudieron adaptarse a las condiciones diurnas generaron conos en las zonas centrales de la retina, generando foveas y bandas visuales (Kolb et al., 2001). La mayoría de los mamíferos poseen dos tipos de conos con pigmentos sensibles en los extremos rojo/verde y azul del espectro electromagnético, razón por la cual tenemos una visión dicromática. Cabe señalar que entre los mamíferos, solo los primates poseen tres conos y una visión tricromática, evolucionado esta característica dos veces de manera independiente en este grupo (Lee, 2008; SurrIDGE et al., 2003).

En cuanto al *Octodon degus*, este es un roedor nativo chileno, con hábitos diurnos-crepusculares, precocial y que se caracteriza por su alta actividad visual.



En cuanto a sus fotorreceptores, su retina tiene alrededor de 2.9 millones de conos y 6.5 millones de bastones. En sus conos posee dos tipos de opsinas: M/LWS (UV,  $\lambda_{M\acute{a}x} = 360$  nm) y SWS1 (verde,  $\lambda_{M\acute{a}x} = 506$  nm), en una proporción de 13:1 (Soto, 2011; Jacobs et al., 2003; Reynolds & Wright, 1979).

Las células ganglionares de la retina (CGR) son las células que generan proyecciones hacia el cerebro y de las pocas que pueden gatillar potenciales de acción, conociéndose también que esto ocurre en células amacrinas *starburst* durante el desarrollo y en células horizontales de manera experimental (Blanco et al., 1996; Yan et al., 2020). La literatura describe que en primates se pueden encontrar 17 tipos distintos, mientras que en ratas alrededor de 22 y en ratones entre 30 a 46 tipos distintos (D'Souza & Lang, 2020; Field & Chichilnisky, 2007; Masland, 2012). La gran gama de células ganglionares existentes se debe a que presentan características únicas de acuerdo con distintas propiedades fisiológicas (contraste, movimiento, color, etc.) y presentan diversos blancos centrales en el cerebro. Durante el desarrollo retiniano, como fue antes mencionado, las células ganglionares son las primeras en ser generadas y su diversidad se establece en el día 5 postnatal en ratones antes que la cría abra los ojos (Baden et al., 2016; Rheaume et al., 2018).

Los axones que generan las células ganglionares durante su desarrollo proyectan a seis zonas del cerebro, de las cuales dos vías se dirigen al telencéfalo: la vía tectofugal (retina-mesencéfalo-tálamo-telencéfalo) y la vía tálamofugal (retina-tálamo-telencéfalo).

### 3.2 Especializaciones retinianas

La distribución de células ganglionares retinianas en los animales adultos es heterogénea, esto genera la existencia de zonas donde hay mayor densidad celular las cuales se asocian con un aumento en la agudeza visual. Estas áreas de mayor densidad son conocidas como *especializaciones retinianas*, las cuales presentan variaciones de acuerdo con su forma, número y posición sobre el tejido (Figura 4). Estas especializaciones se evidencian a través de mapas de densidad celular que caracterizan las diferencias de densidad, sea de CGR o fotorreceptores, y que permiten visualizar los distintos patrones presentes mediante las líneas de isodensidad.

Para efectos de este trabajo se caracterizarán dos tipos de especializaciones retinianas: (i) el *área centralis*, y (ii) la *banda visual*. El *área centralis* se define como una región circular, relativamente pequeña, que presenta la mayor densidad de células ganglionares retinianas. Debido a que la agudeza visual depende de la densidad de células retinianas (fotorreceptores, interneuronas o células ganglionares), la porción del espacio visual que se ve representada en esta área es crítica para la detección de depredadores, presas y coespecíficos. Esta *área centralis* se puede encontrar a nivel central, dorsal, ventral, temporal o nasal y en algunas ocasiones puede existir más de una (Moore et al., 2017).

En la literatura se describe que los depredadores, así como en animales que viven en cuevas y bosques, y en aquellos que usan sus manos para realizar alguna tarea, poseen un *área central* en la región frontal del campo visual. Esta

área se proyecta en el centro del campo binocular y se ubica hacia la zona temporal de la retina, aunque varía dependiendo de la orientación que tenga el ojo en la órbita ocular (Collin, 1999; Cronin et al., 2014).

Por otro lado, la banda visual es una estructura que se compone de altas densidades de CGR, lo cual sugiere que la agudeza visual es correspondiente con la región del campo visual donde se presenta. Esta especialización se desarrolla principalmente en los organismos que tienden a ser presas, por ejemplo, animales herbívoros, y cuya función sería la detección de los depredadores. En general, tiende a presentarse como una banda ubicada en el eje naso-temporal, que representa la interfaz aire-tierra (en organismos terrestres) o la interfaz aire-arena (en organismos acuáticos), lo que les permite tener un campo visual panorámico y sin necesidad de que se generen movimientos rápidos con los ojos.

### **3.3 Relación entre la distribución topográfica de la CGR con el modo de vida**

Se han propuesto distintas hipótesis que pretenden establecer relaciones entre las diversas conformaciones que tienen las especializaciones retinianas y los modos de vida de las distintas especies. Estas hipótesis buscan predecir las especializaciones retinianas de distintos animales conociendo sus hábitos visuales (Hughes, 1977; Moore et al., 2017).

La diversidad del entorno visual al que se enfrentan los animales es muy variada. En el caso de los animales terrestres, el horizonte divide el mundo en el suelo del cielo, donde en el primero es probable encontrar pareja o alimento,

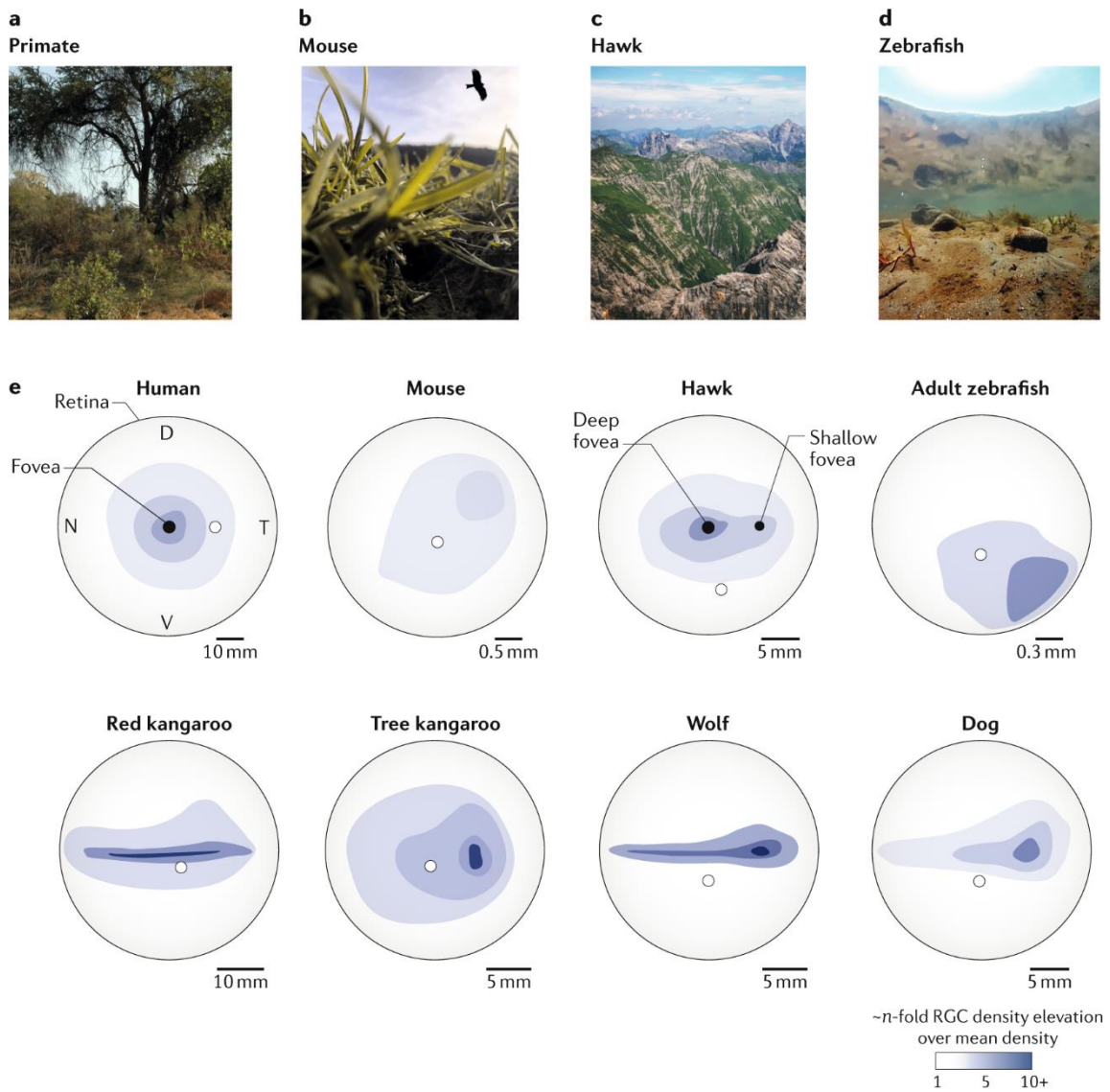
mientras que en el segundo pueden existir depredadores aéreos que puedan comérselos (Figuras 4A y 4B). Algunos autores explican la correlación entre el entorno visual de los animales y las CGR mediante la teoría del terreno (*terrain theory*), la cual sugiere que la distribución de estas células dependería de la simetría de la percepción del mundo, y que el incremento en la densidad de células ganglionares a través del horizonte, es decir una banda visual, es una especialización común en las especies terrestres cuyo campo visual no está completamente cubierta por vegetación cercana (Collin, 1999; Cronin et al., 2014).

Interesantemente, las aves presentan un mundo dividido en dos (tierra y cielo) al momento del vuelo (Figura 4C). También el caso de los animales marinos (Figura 4D), el eje vertical contiene diversas variaciones graduales, como en brillo, el desorden visual del fondo marino, entre otros. Además, en peces de aguas profundas, como el suelo está más cerca hay mayores detalles visuales que pueden ser detectados por sus ojos.

Cabe hacer notar que animales que pertenecen a un mismo linaje, pero presentan hábitos visuales distintos, pueden presentar diferencias en la forma, ubicación y extensión de las distintas especializaciones retinianas. Un ejemplo de esto se observa al comparar dos especies de la familia Macropodidae (Figuras 4I y 4J), el canguro rojo (*Macropus rufus*), que vive en llanuras abiertas de Australia, y el canguro arborícola (*Dendrolagus dorianus*), el cual vive en el bosque tropical de Nueva Guinea. El del primero, presenta una amplia banda visual que le permite observar y analizar el horizonte distante, mientras que en el

segundo presenta un área centralis dispuesta hacia temporal que se asocia a su hábitat arbóreo (Baden et al., 2020; Hughes, 1975).

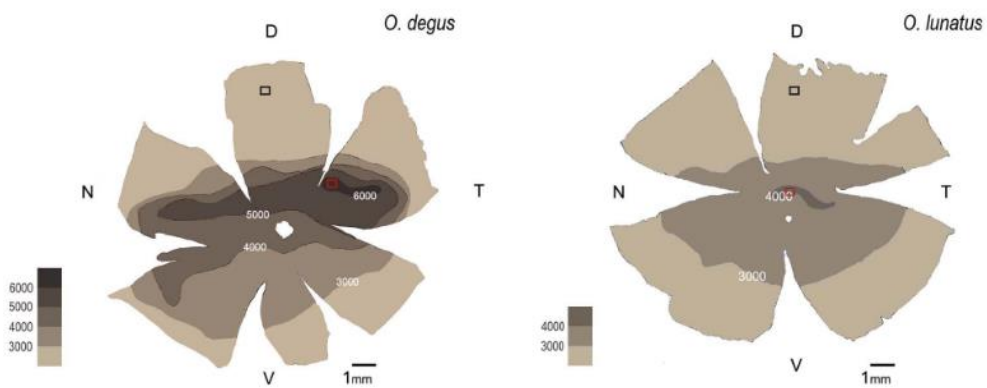
Estos cambios en los mapas topográficos también pueden ser afectados por cambios rápidos en el modo de vida entre especies cercanamente emparentadas entre sí. Como se observa en las Figuras 4K y 4L, la distribución de las CGR de un lobo (*Canis lupus*) y un perro (*Canis lupus familiaris*) difieren en que el primero tiene una banda visual más pronunciada con una densidad mayor de células ganglionares de la retina por todo en eje naso-temporal, a diferencia del segundo cuya densidad es menor y su banda visual es menos pronunciada. Esta diferencia entre ambas retinas se correlacionaría con la historia de domesticación a la cual estuvo expuesto el perro durante los últimos 15.000 años (Peichlcu, 1992).



**Figura 4. Diferentes topografías de CGR en distintos hábitats.** (A-D) Fotografías de distintos ambientes y hábitats. (E-L) Densidad de la distribución de **CGR** a lo largo de distintas especies. N = Nasal, T = Temporal, D = Dorsal, V = Ventral. (Modificado de Baden et al., 2020).

Otros autores, como Vega-Zuniga et al. (2013), han estudiado las diferencias existentes en los mapas topográficos, los campos binoculares y las proyecciones retino-cerebrales con respecto a los modos de vida de dos Octodóntidos: *Octodon degus* (diurno/crepuscular) y *Octodon lunatus* (nocturno). En este estudio se evidenció que a pesar de que los dos roedores son

filogenéticamente cercanos, difieren en las órbitas oculares y en la presencia del área central que, en el caso de *degú* se ubica en dorso-temporal, mientras que en *O. lunatus* se ubica en el centro de la retina. Dicho cambio en la posición de la especialización es consistente con la diferencia en la orientación del ojo en la órbita, del modo tal que el área centralis se conserva mirando hacia la porción del campo de mayor binocularidad en ambas especies. Esto sería consecuencia de que sus modos de vida son distintos, es decir, los hábitos nocturnos y la visión binocular derivan debido a la presencia de un ambiente nocturno (*hipótesis de la restricción nocturna*) (Figura 5). Esto sugiere la existencia de un alto grado de plasticidad en la filogenia para estos rasgos estructurales relevantes del sistema visual, dado que el estado de estos no es conservado entre estas especies, sino que varían de acuerdo con hábito visual que estas presentan.



**Figura 5. Diferencias en los mapas topográficos de distintos roedores.** A la izquierda *Octodon degus* y a la derecha *Octodon lunatus* (Vega-Zuniga et al., 2013).

### 3.4 Desarrollo de las especializaciones retinianas

Los mapas topográficos de las CGR no solo varían en función del modo de vida del animal, su hábitat y su evolución, existiendo también un correlato en función de su desarrollo. Según se describe en distintos mamíferos altriciales (que nacen inmaduros), en etapas postnatales tempranas la distribución de las CGR es uniforme, y va cambiando en etapas posteriores, hasta alcanzar la forma adulta, en estados posnatales avanzados, cuando los animales llegan a ser visualmente activos (Lia et al., 1987; Robinson et al., 1989). Por ejemplo, en el artículo de Mastronarde et al. (1984) se pone en evidencia que la distribución de células ganglionares tipo Alpha varía entre etapas tempranas y el adulto en los gatos, pues en estos últimos se pone de manifiesto que las especializaciones en el centro de la retina crecen levemente (~3%) a diferencia de los extremos (80%).

En relación con este fenómeno se han propuesto dos hipótesis:

- a) **Hipótesis de la muerte diferencial de CGR.** Esta hipótesis propone la existencia de una gran muerte de CGR hacia la periferia de la retina por fenómenos asociados a muerte celular programada (Murakami et al., 1982; Stone, 1983).
- b) **Hipótesis de expansión diferencial.** Esta hipótesis propone que tanto la tasa de expansión como su alcance son menores en la zona central y mayores hacia la periferia de la retina (Mastronarde et al., 1984).



### 3.5 El problema

Considerando los antecedentes previamente mencionados, cabe destacar que no existe claridad sobre cómo se forman las especializaciones retinianas durante la ontogenia (Figura 6). Esto sería clave para entender cuáles son los cambios que suceden a nivel postnatal en la retina y que determinan su heterogeneidad en cuanto a la distribución de las CGR.

Para esto se propone utilizar como modelo al roedor chileno *Octodon degus*, de la familia *Octodontidae*, el cual presenta ventajas asociadas tales como ser un animal diurno, ser precocial, es decir abre tempranamente sus ojos y ve desde el nacimiento, y es visualmente activo. Además, es un animal altamente social y que se reproduce en la naturaleza 1-2 veces al año (en cautiverio en similar este tiempo), teniendo un período de gestación de 90-95 días y un tamaño de camada entre 4-6 crías.

Por otra parte, su ecología visual ha sido previamente estudiada en el adulto, encontrando que en el adulto se presenta una banda visual y un área centralis ubicada hacia temporal, la cual se asocia a la manipulación que puede realizar con sus patas delanteras.

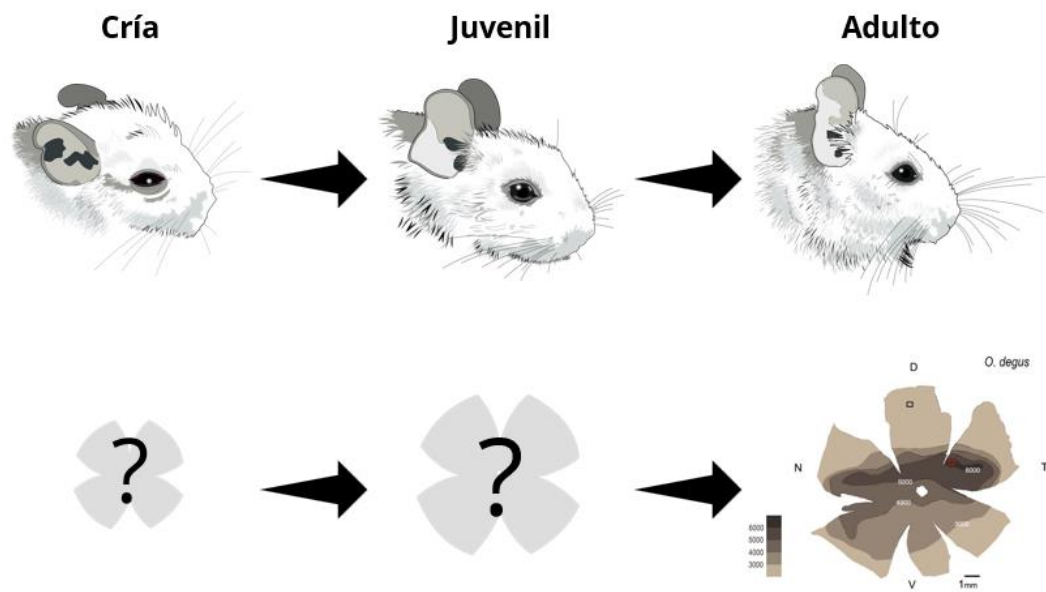


Figura 6. Planteamiento del problema.

## 4. HIPÓTESIS

La distribución y topografía adulta de las células en la Capa de Células Ganglionares (CCG) se adquiere durante el desarrollo postnatal del *Octodon degus*.

### 4.1 Objetivo general

Describir y contrastar los cambios que ocurren en la distribución de los patrones de los mapas de isodensidad de las células ganglionares durante la ontogenia de la retina del *Octodon degus*.

### 4.2 Objetivo específico I

Caracterizar y describir los mapas topográficos de células ganglionares de la retina durante distintos estadios en la ontogenia del *Octodon degus*.

### 4.3 Objetivo específico II

Examinar las variaciones estadísticas asociadas a los cambios en los números de células ganglionares de la retina durante la ontogenia del *Octodon degus*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Animales.

Para realizar los experimentos se utilizaron (16) ejemplares de degús (*Octodon degus*) de ambos sexos en distintos estadios postnatales, desde el día 2 hasta adulto (6 meses). Éstos fueron criados en cautiverio y reproducidos en el Bioterio del Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Los animales fueron tratados siguiendo los protocolos establecidos por el Comité Institucional de Cuidado y Uso Animal (CICUA) de la Universidad de Chile y la “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” del *National Institute of Health* (NIH). Los experimentos fueron previamente aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, el CICUA bajo el permiso N° 21469-FCS-UCH y el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

### 5.2 Preparación de las retinas.

Los animales estudiados fueron anestesiados inicialmente usando una dosis de 1,5-2% de isoflurano en O<sub>2</sub>, suministrado a un ritmo de 100 mL/kg/min. Posteriormente, se les anestesió con una mezcla intraperitoneal de ketamina/xilazina (150/20 mg/kg). Luego se realizó una perfusión intracardiaca usando una solución salina tibia (cloruro de sodio 0,9%), seguida de 100 mL de una solución fría de paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer fosfato 0,1 M (PBS).

Después de la perfusión, los ojos fueron marcados en la esclerótica dorsal, extraídos y postfijados en PFA 4% durante una hora. Luego, la retina se extrajo y se montó en un portaobjetos gelatinizado siguiendo la metodología propuesta por Ullmann et al., (2012). Esta consiste en remover la retina de la órbita ocular y realizar un montaje completo (*wholemout*) con la cara interna hacia el observador. La retina se cortó en forma de cruz de malta para aplanarla, se anotó su direccionalidad en el portaobjetos y se dejó secar.

Posteriormente, las retinas fueron teñidas usando tinción de Cresil Violeta y cubiertos con Entellan™ (Merck).

### **5.3 Conteo de células de la CCG y generación de mapas de isodensidad.**

Las muestras retinianas fueron observadas utilizando un Microscopio Nikon Eclipse E400 y analizadas usando el programa StereoInvestigator® de MBF Bioscience.

El contorno del tejido fue delineado en el aumento de 4x, mientras que el conteo de la capa superficial del tejido, correspondiente a la Capa de Células Ganglionares (CCG), se realizó en 100x usando aceite de inmersión. Para esto, se utilizó la modalidad "Optical Fractionator Workflow" del programa, configurando grillas de 756x756  $\mu\text{m}$  (para 2 conteos) y 894x894  $\mu\text{m}$  (para el resto de los conteos) (Tabla 1) (West, 1993).

**Tabla 1. Parámetros experimentales desde el *Optical Fractionator* del Programa Stereoinvestigator.**

Grupo	Animal	Counting frame ( $\mu\text{m} \times \mu\text{m}$ )	Grilla ( $\mu\text{m} \times \mu\text{m}$ )	Area sampling fraction
1	P02	200 x 200	756 x 756	0,07
2	P04	200 x 200	894 x 894	0,05
3	P08*	200 x 200	894 x 894	0,05
	P08-2*	200 x 200	894 x 894	0,05
	P09	200 x 200	894 x 894	0,05
4	P13	200 x 200	894 x 894	0,05
	P14	200 x 200	894 x 894	0,05
	P15	200 x 200	894 x 894	0,05
5	P30	200 x 200	894 x 894	0,05
	P30-2	200 x 200	894 x 894	0,05
	P31	200 x 200	894 x 894	0,05
6	Adulto 1 (P180)	200 x 200	756 x 756	0,07
	Adulto 2 (P180)	200 x 200	894 x 894	0,05
	Adulto 3 (P180)	200 x 200	894 x 894	0,05

*Nota: Las retinas señaladas con asterisco (\*) provienen del mismo animal, siendo ojos distintos.*

Como se describe en la literatura, la CCG contiene tanto células ganglionares retinianas (CGR) como células amacrinas desplazadas (CA<sub>d</sub>), las cuales no se pudieron distinguir entre sí utilizando criterios citológicos como tamaño y morfología (Robinson et al., 1989). Debido a esto, los mapas de isodensidad que se presentan en esta tesis representan a la CCG la cual contiene a ambos tipos celulares.

El archivo .xml obtenido desde el Stereoinvestigator se procesó utilizando un “*script*” previamente publicado por Garza-Gisholt et al., (2014) con la finalidad de tener los mapas de isodensidad a partir de los conteos de la capa de CCG. Estas densidades de células son mostradas como curvas de densidad, en donde cada curva representa el límite de densidad en rangos de 1.000 células/mm<sup>2</sup>.

Los datos que permiten obtener el número de células, los coeficientes de Scheaffer-Mendenhall-Ott, los máximos y otros datos presentados posteriormente se obtuvieron directamente de los datos generados por el programa a partir de las cuantificaciones y la varianza existente entre cada sitio del conteo.

El número de células en la CCG se estimó a partir del conteo generado en cada sitio de la retina multiplicado por el inverso del *area sampling fraction* (Tabla 1). Posteriormente, estos valores fueron transformados en densidad dividiéndolos por el área de cada sitio (células/mm<sup>2</sup>), los cuales sirvieron de coordenadas para generar los mapas de isodensidad usando el “*script*” antes mencionado.

Para efecto de los análisis de las estimaciones de los conteos se consideró un coeficiente de error de Schaeffer-Mendenhall-Ott menor a 0,1 (Glaser & Wilson, 1998), y un grado de varianza, debido al error de muestreo causado por los procedimientos estereológicos, conocido como  $CE^2/CV^2$  de Schaeffer-Mendenhall-Ott menor a 0,5.

Los datos obtenidos fueron analizados y graficados utilizando el software RStudio 2023.06.2.

#### **5.4 Tamaño de células y análisis de los vecinos más cercanos (NND)**

Para poder realizar el análisis de las diferencias en los tamaños celulares durante la ontogenia, se procedió a tomar 3 fotografías en las zonas de mayor (cerca del centro) y menor densidad (en la periferia), respectivamente, de cada

retina en los distintos estadios analizados usando un microscopio Olympus® BX51. Las imágenes fueron capturadas con el software Spot 5.1 de SpotImaging en un aumento de 400X usando un lente de inmersión. Luego, usando el software ImageJ 1.54f se realizó un conteo en el eje horizontal y vertical de 20 células por cada imagen, obteniéndose un total de 60 promedios por zona. Esto se realizó tanto en la zona de mayor y menor densidad de cada retina. Luego, utilizando el software RStudio 2023.06.2 se realizaron los análisis estadísticos necesarios y se obtuvieron distintos gráficos.

Para poder llevar a cabo el análisis NND, se escogió la imagen más representativa de la zona de mayor y menor densidad obtenidas previamente, para cada retina, y utilizando el software ImageJ 1.54f las imágenes fueron binarizadas y usando la función centroide del programa, se obtuvieron los valores de coordenadas de cada célula. Luego, usando el plugin nnd del programa, según como se describe en Cook, 1996 y D'Souza et al., 2022, se obtuvieron los perfiles de densidad los cuales fueron graficados y analizados usando el software RStudio 2023.06.2.

## **5.5 Estadística**

Se realizó el análisis estadístico correspondiente utilizando el programa R Studio 2023.06.2. Para evaluar la normalidad en los datos, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk (valor de  $p < 0,05$ ). Considerando que en algunos casos los datos no cumplen los criterios de homocedasticidad para realizar un ANOVA, así como en algunos casos el tamaño de muestra ( $n$ ) era reducido, y que la especie



presenta una diversidad inherente, se optó por realizar pruebas no paramétricas para comparar los distintos grupos.

En este contexto, se seleccionó la prueba de Kruskal-Wallis (valor de  $p < 0,05$ ) para determinar si existían diferencias significativas entre los grupos analizados. Para comprobar si existían diferencias significativas entre estos grupos en estadios consecutivos se optó por prueba de comparaciones múltiples de Dunn con ajuste de Bonferroni.

Para finalizar, para comprobar la correlación entre algunas variables calculadas se optó por el coeficiente de correlación de Pearson y, para comparar diferencias entre variables similares pero de grupos distintos se utilizó la prueba de Mann-Whitney (valor de  $p < 0,05$ ).

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Topografía y especializaciones retinianas

Se realizó un análisis de los cambios en las especializaciones retinianas, el número de CGR, área de la retina, tamaños celulares de las CGR y distancia entre las células vecinas durante el desarrollo en un total de 14 retinas de *Octodon degus*, los cuales iban desde el estadio 02 postnatal (P02) hasta el P180 (adulto). Para realizar un mejor análisis de las retinas, estas fueron agrupadas en 6 grupos correspondientes a estadios del desarrollo similares, de esta manera los grupos 1 y 2 quedaron conformados por las retinas de estadios P02 y P04, respectivamente, el grupo 3 por las retinas de estadios P08 y P09, el grupo 4 por las retinas de estadios P14 al P15, el grupo 5 por las retinas de estadios P30 y P31, y para finalizar el grupo 6 por las retinas de animales P180 o superiores (adultos).

#### 6.1.1 Área de la retina y estimaciones del número total de células en la Capa de Células Ganglionares

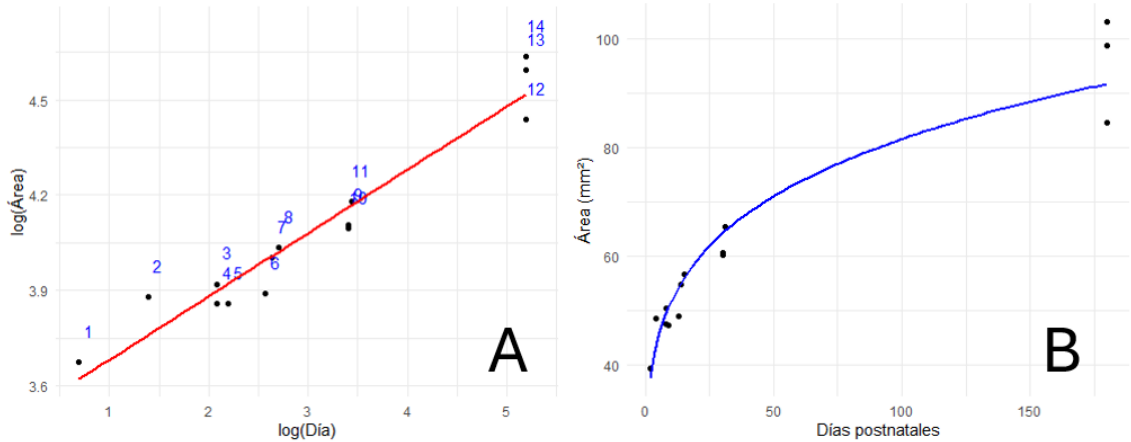
Al observar la Tabla 11 (ver anexo) podemos darnos cuenta de que la retina del animal en una etapa temprana del desarrollo, como es P02, posee un área total de 39,38 mm<sup>2</sup>, mientras que en el estadio P04 aumenta a 48,39 mm<sup>2</sup>, existiendo un aumento del 22,88% en 2 días. Entre los días P08 y P09, correspondientes al grupo 3, tenemos un promedio de 48,36 mm<sup>2</sup>, el cual muestra

un incremento de 22,81% con respecto a P02, mientras que con P04 no hay cambios significativos. Con respecto al grupo 4, correspondiente a las retinas de los grupos P13 al P15 tenemos un promedio de 53,41 mm<sup>2</sup>, dando como resultado un aumento de 10,65% con respecto al grupo anterior. En cuanto al grupo 5, conformado por las retinas de los estadios P30 y P31, tenemos como promedio 62,05 mm<sup>2</sup>, dando un aumento del 16,18% con respecto al grupo 4. Para finalizar, el grupo 6 correspondiente a las retinas de los estadios P180, tenemos como área promedio 95,53 mm<sup>2</sup>, el cual es 53,96% mayor que el grupo anterior, y 142,59% con respecto al estadio P02.

Al realizar un ajuste no lineal sobre los datos del crecimiento del área de la retina en función del tiempo, se observa un patrón consistente con una función de potencia (Figura 7b). Para verificar la representatividad de esta estimación con respecto a los datos obtenidos, se realizó una regresión lineal, como se muestra en la Figura 7a. A partir de este se obtiene una curva del tipo  $\text{Log}(\text{Area}) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{Log}(\text{Día})$ , con parámetros  $\beta_0$  y  $\beta_1$  presentados en la Tabla 2. Esta curva presenta un coeficiente de correlación de 0,97, lo que respalda que el ajuste lineal realizado es sólido con los datos obtenidos.

A partir de estos resultados y ajustando la curva antes mencionada, se puede derivar la curva de la función potencia  $y = a \cdot x^b$ , donde los coeficientes a y b están presentados en la Tabla 2. Las variables X e Y corresponden a día y área, respectivamente. De esta manera, se obtiene una ecuación del tipo  $\text{Área}(\text{Día}) = 32,54 \cdot \text{Día}^{0,1995}$ , la cual describe el crecimiento de la retina a lo

largo de la ontogenia del degú.



**Figura 7. Ajuste no lineal de crecimiento del área de la retina promedio del *Octodon degus* en función de la edad.** (a) Corresponde al gráfico de  $\log(\text{área})$  vs  $\log(\text{día})$  con su respectivo ajuste lineal. (b) Corresponde al gráfico del área en función de los días, cuyo  $R^2$  es de 0,912 y el valor de  $p$  es de  $1,054 \times 10^{-7}$ .

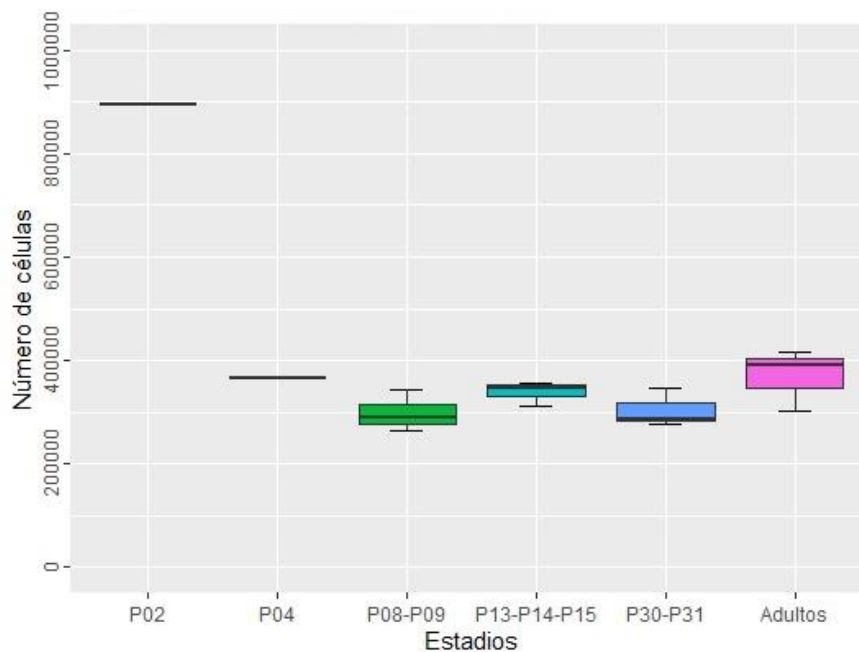
**Tabla 2. Parámetros de los valores ajustados para el modelo de crecimiento del área de la retina del *Octodon degus*.**

	Valor	Desviación estándar
$\beta_0$	3,483	0,049
$\beta_1$	0,199	0,015
<b>a</b>	32,54	2,022
<b>b</b>	0,199	0,015

Con respecto al número de células totales existente en la CCG en los distintos estadios (Tabla 11 (ver anexo)), se observa que en el estadio P02 posee un total de 895.368 células, siendo el valor más alto de todas las retinas contabilizadas. En cambio, en el estadio P04 el número decae a 366.250 células. Con respecto al grupo 3, correspondiente a P08 y P09, el promedio es de 298.907 células, en un rango que va desde 264.000 a 343.000. Para el grupo 4, que

corresponde a los estadios del P13 al P15, el promedio corresponde a 338.863 células. En el grupo 5, que comprende los estadios P30 y P31, el número cae a 303.597 células. Finalizando, el grupo 6 que comprende los adultos, tiene un valor promedio de 369.948 células.

Como se observa en la Figura 8, al inicio del desarrollo (P02) el número de células es alto, pero en el estadio P04 este valor decae en un 40,9%. Esta diferencia varía en un rango entre el 33 al 41% comparado con el valor inicial entre los grupos del 2 al 6, lo cual indicaría que podría existir una pérdida rápida de células en la CCG en etapas tempranas del desarrollo y luego se mantendría constante a lo largo del tiempo.



**Figura 8. Número promedio de células totales en la CCG en función del estadio del desarrollo.** Como puede observarse, existe un número alto de células en etapas tempranas del desarrollo el cual decae y se mantiene en los estadios posteriores y en la adultez. Las cajas abarcan el rango intercuartílico (RIC), con una línea central que corresponde a la mediana. Los bordes o bigotes de cada una corresponden a los valores mínimos y máximos de cada grupo.

Cabe señalar, como se muestra en la Tabla 11 (ver anexo), que los valores para el coeficiente de error de Schaeffer-Mendenhall-Ott obtenidos para el número total de células por retinas en distintos estadios es  $< 0,1$ , esto indica que los datos son altamente confiables en su obtención. Del mismo modo, el coeficiente  $CE^2/CV^2$  de Schaeffer-Mendenhall-Ott  $< 0,5$  indica que el error de muestreo al obtener los datos es poco, por lo cual los datos son altamente confiables.

### **6.1.2 Especializaciones retinianas y densidad de células en la Capa de Células Ganglionares**

La distribución de células totales en la CCG no es homogénea en todos los estadios del desarrollo del degú. Como se observa en la Figura 9, correspondiente al estadio P02, la distribución de las células es uniforme en todo el tejido, sin poder distinguir especializaciones retinianas como una banda horizontal o un área centralis. De hecho, para poder diferenciarla del resto se utilizó una escala independiente por sus altos valores de densidad los cuales llegaban a un máximo de 33.700 células/mm<sup>2</sup> y una densidad promedio de 22.736 células/mm<sup>2</sup>.

En cuanto a la retina del estadio P04 (Figura 10) presenta diferencias con respecto a la retina anterior. Por un lado, el número promedio de células disminuye un 59,1%, teniendo un máximo de densidad de 10.525 células/mm<sup>2</sup> el cual se ubica como un área centralis hacia temporal. Por otro lado, se comienza a observar levemente un gradiente a nivel ventro-dorsal, pero sin una definición

de especializaciones retinianas y posee una densidad promedio de 7.569 células/mm<sup>2</sup>.

Con respecto a la retina en el estadio P08 (Figura 11), esta presenta una cantidad de células menor que la P04, y en la cual empieza a distinguirse una banda visual horizontal en el eje naso-temporal, además presenta un máximo de 9.250 células/mm<sup>2</sup> y una densidad promedio de 5.728 células/mm<sup>2</sup>.

Sobre la retina P09 (Figura 12), se caracteriza por presentar un gradiente más marcado a nivel ventro-dorsal y el inicio de un área centralis hacia temporal. Además de presentar un máximo de 10.425 células/mm<sup>2</sup> y una densidad promedio de 7.258 células/mm<sup>2</sup>.

En el estadio P13 (Figura 13) el gradiente ventro-dorsal se hace más evidente, y esta presenta un máximo de 9.300 células/mm<sup>2</sup>, además de una densidad promedio de 6.373 células/mm<sup>2</sup>.

Las especializaciones retinianas se hacen más evidentes en el estadio P14/P15 (Figura 14), pues se empieza a vislumbrar un área centralis hacia temporal más marcado, sumado a la refinación de la banda visual en todo el eje naso-temporal. La retina presenta un máximo de 9.075 células/mm<sup>2</sup> hacia temporal y una densidad promedio de 6.310 células/mm<sup>2</sup>.

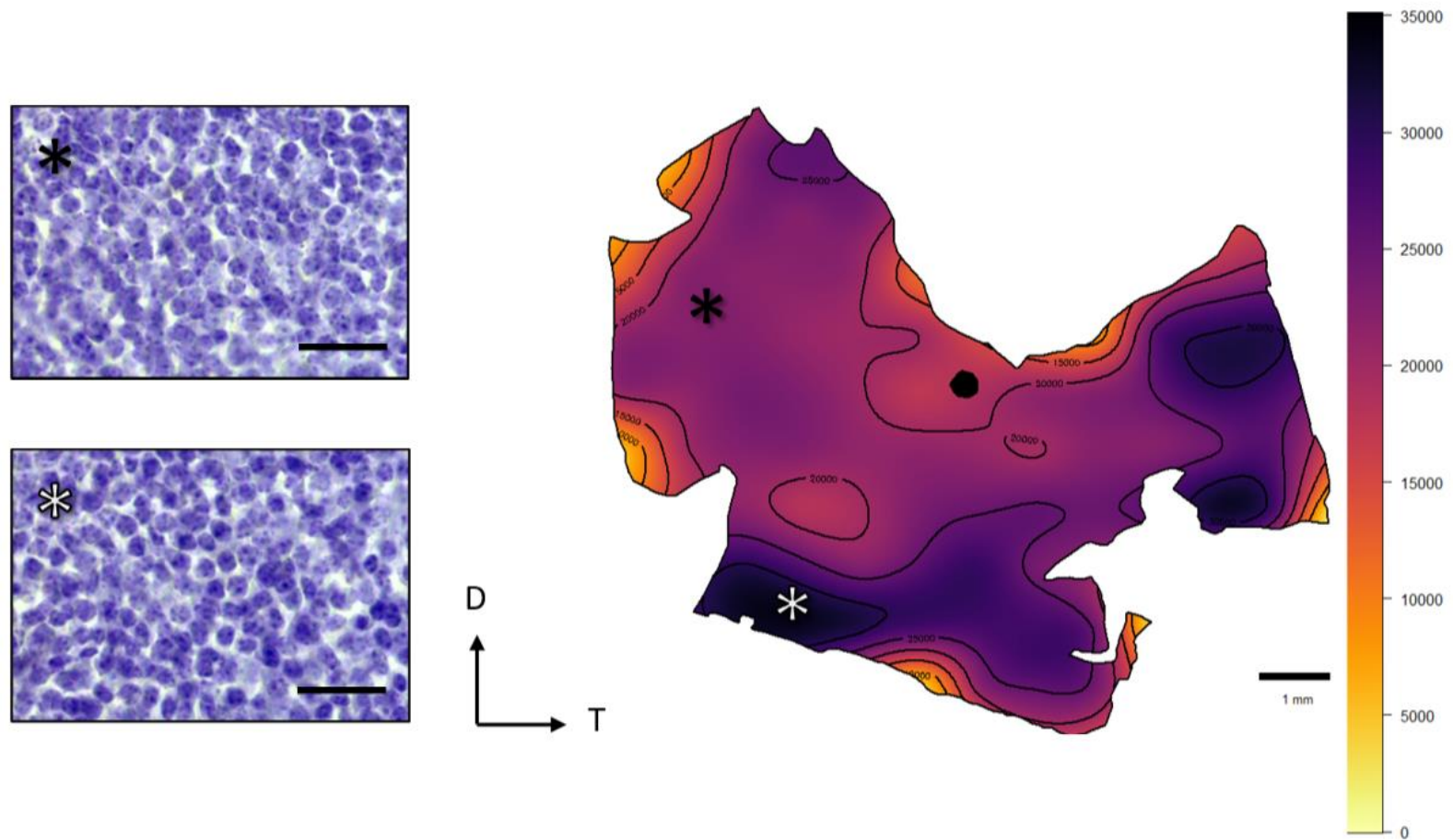
En el estadio P30 (Figura 15) la banda visual horizontal en naso-temporal se refina cada vez más, además de acentuarse el gradiente ventro-dorsal y el área centralis en temporal. Posee un máximo de 11.300 células/mm<sup>2</sup> hacia temporal y una densidad promedio de 4.714 células/mm<sup>2</sup>.

En cuanto a la retina P31 (Figura 16), la banda visual en naso-temporal se

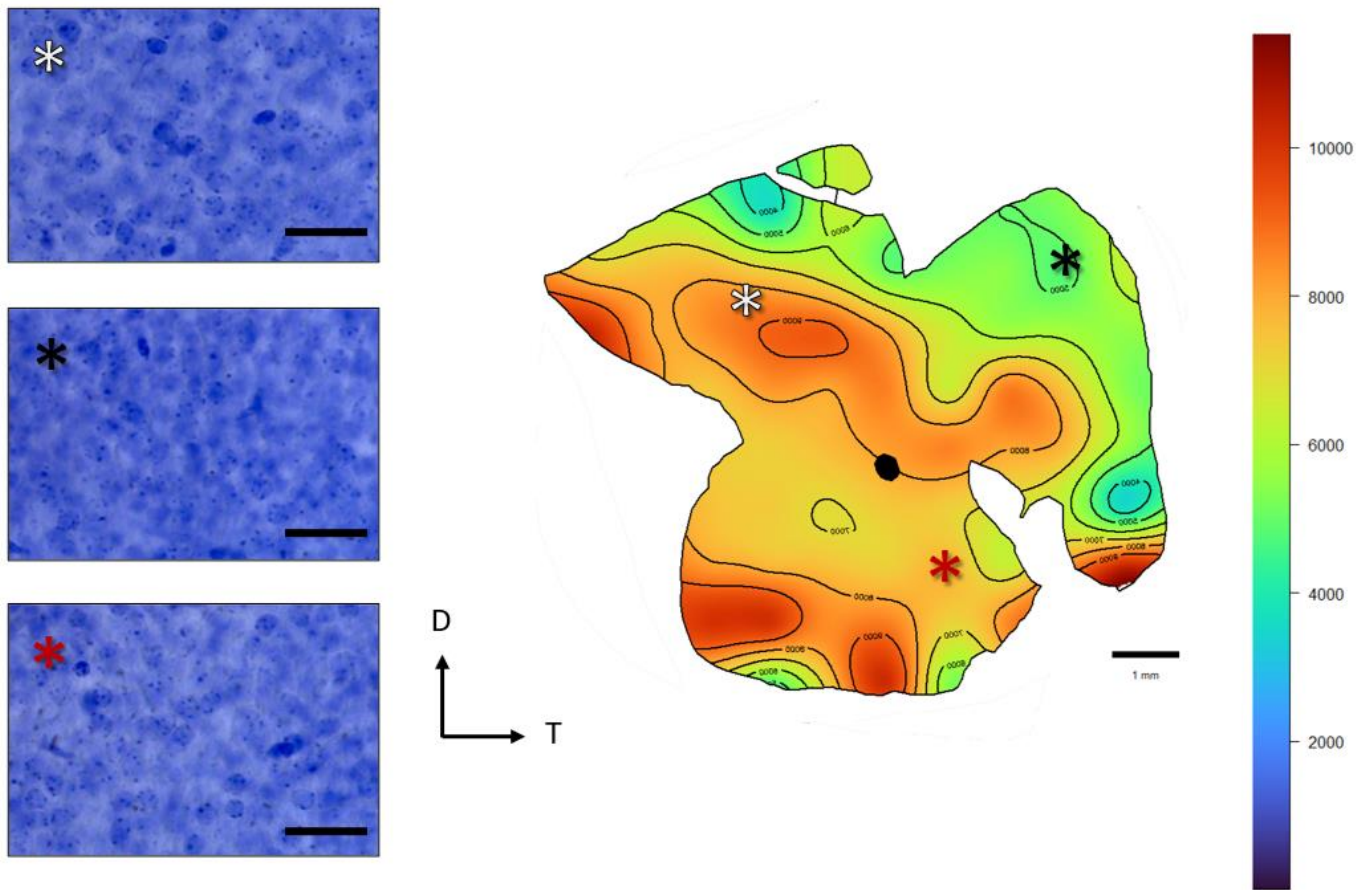
acentúa más. El máximo de células es de 9.000 células/mm<sup>2</sup> y la densidad promedio es de 5.308 células/mm<sup>2</sup>.

Para finalizar, las retinas de adulto (Figura 17) poseen un gradiente ventro-dorsal definido, además de una banda horizontal claramente definida y refinada, y una evidente área centralis hacia temporal. Esta retina posee un máximo de 9.125 células/mm<sup>2</sup> y una densidad promedio de 3.581 células/mm<sup>2</sup>.

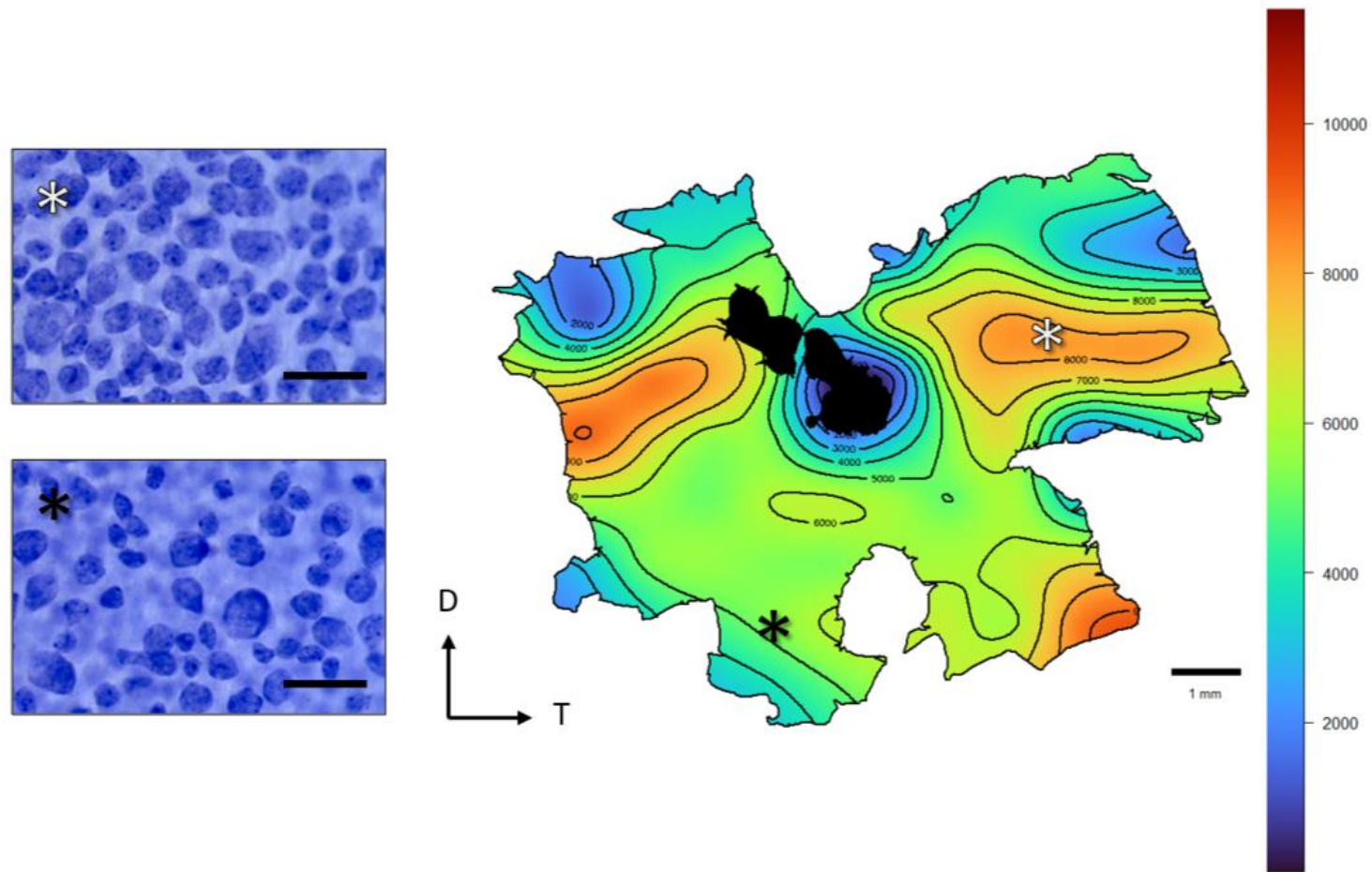




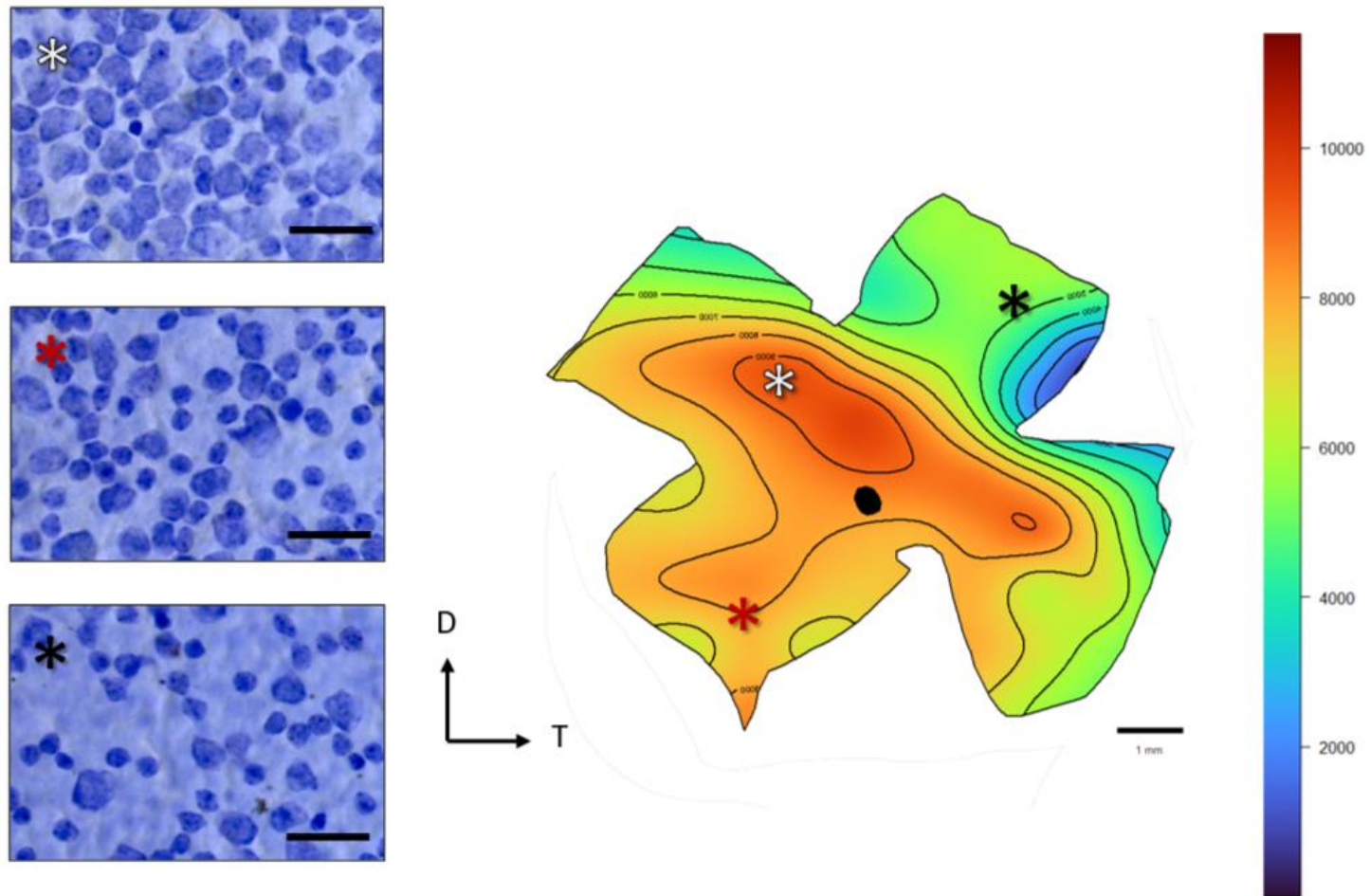
**Figura 9. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 02 posnatal (P02).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25  $\mu$ m. D = dorsal, T = temporal.



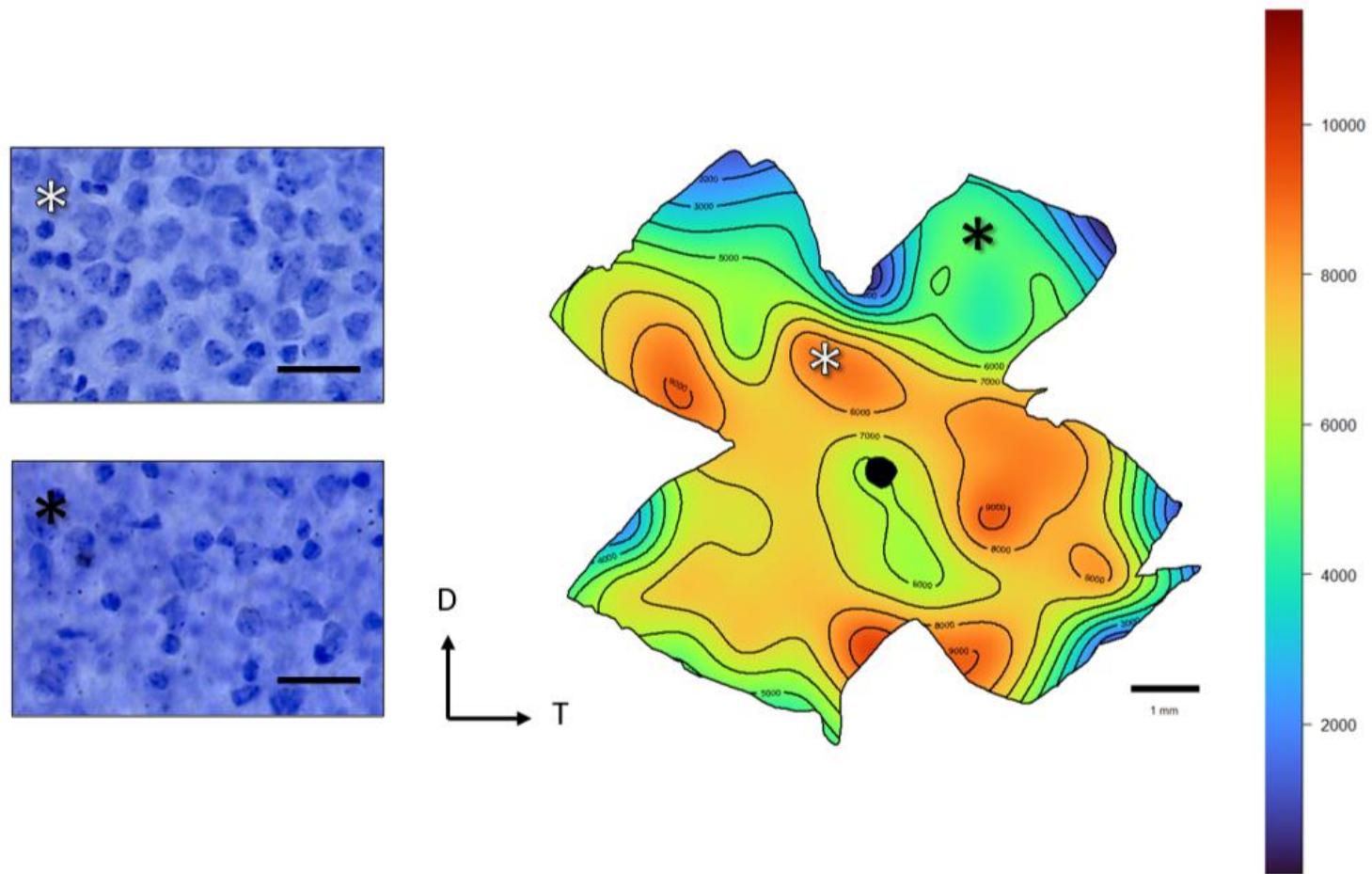
**Figura 10. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 04 posnatal (P04).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25  $\mu$ m. D = dorsal, T = temporal.



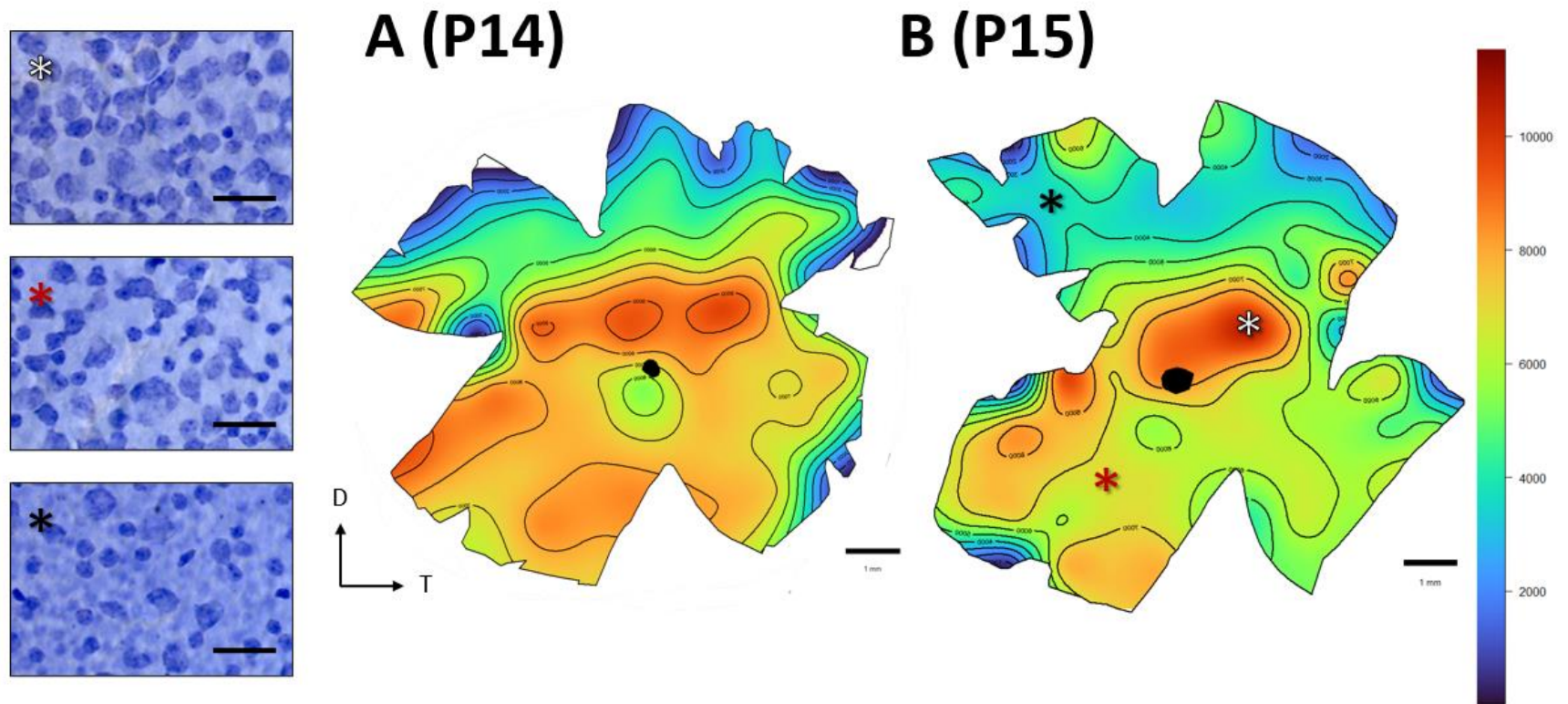
**Figura 11. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 08 posnatal (P08).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25  $\mu$ m. D = dorsal, T = temporal.



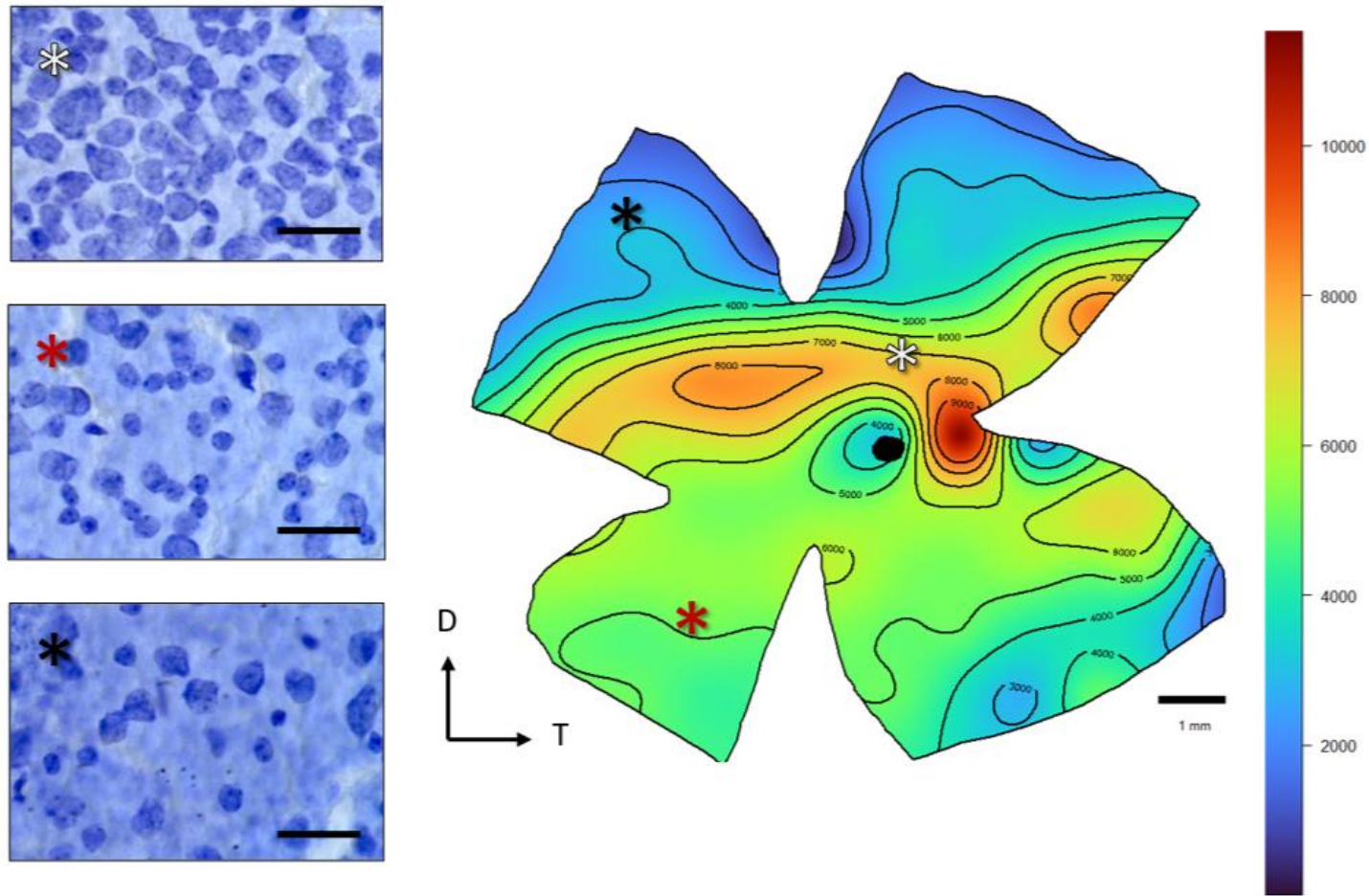
**Figura 12. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 09 posnatal (P09).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25  $\mu$ m. D = dorsal, T = temporal.



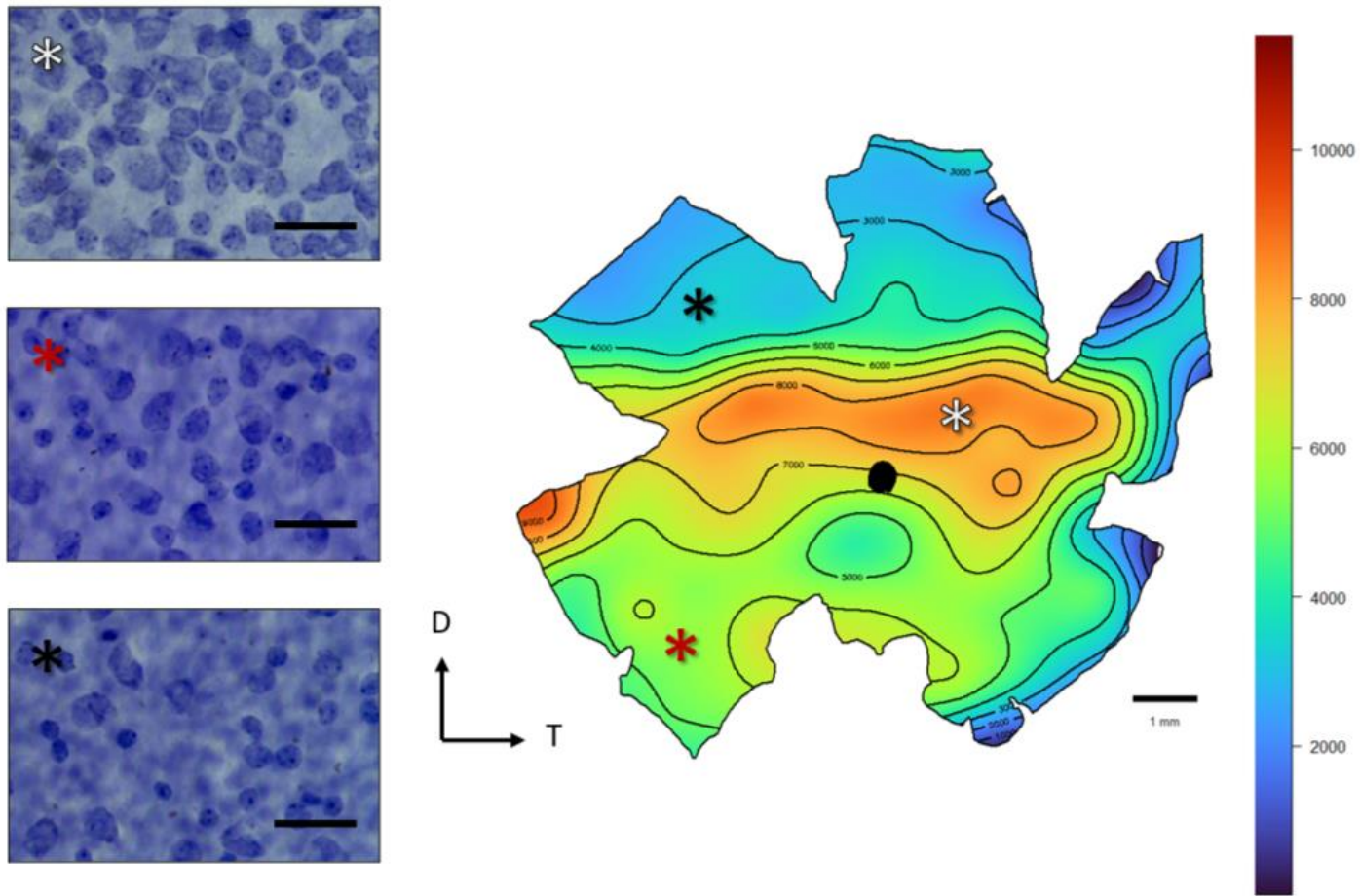
**Figura 13. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 13 posnatal (P13).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por  $\text{mm}^2$ . Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a  $25 \mu\text{m}$ . D = dorsal, T = temporal.



**Figura 14. Mapas de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en los días 14 y 15 posnatal (P14 y P15).** (A) Retina en estadio 14 posnatal y (B) retina en estadio 15 posnatal. Las imágenes con los asteriscos son representativas de la retina P15. Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25 µm. D = dorsal, T = temporal.

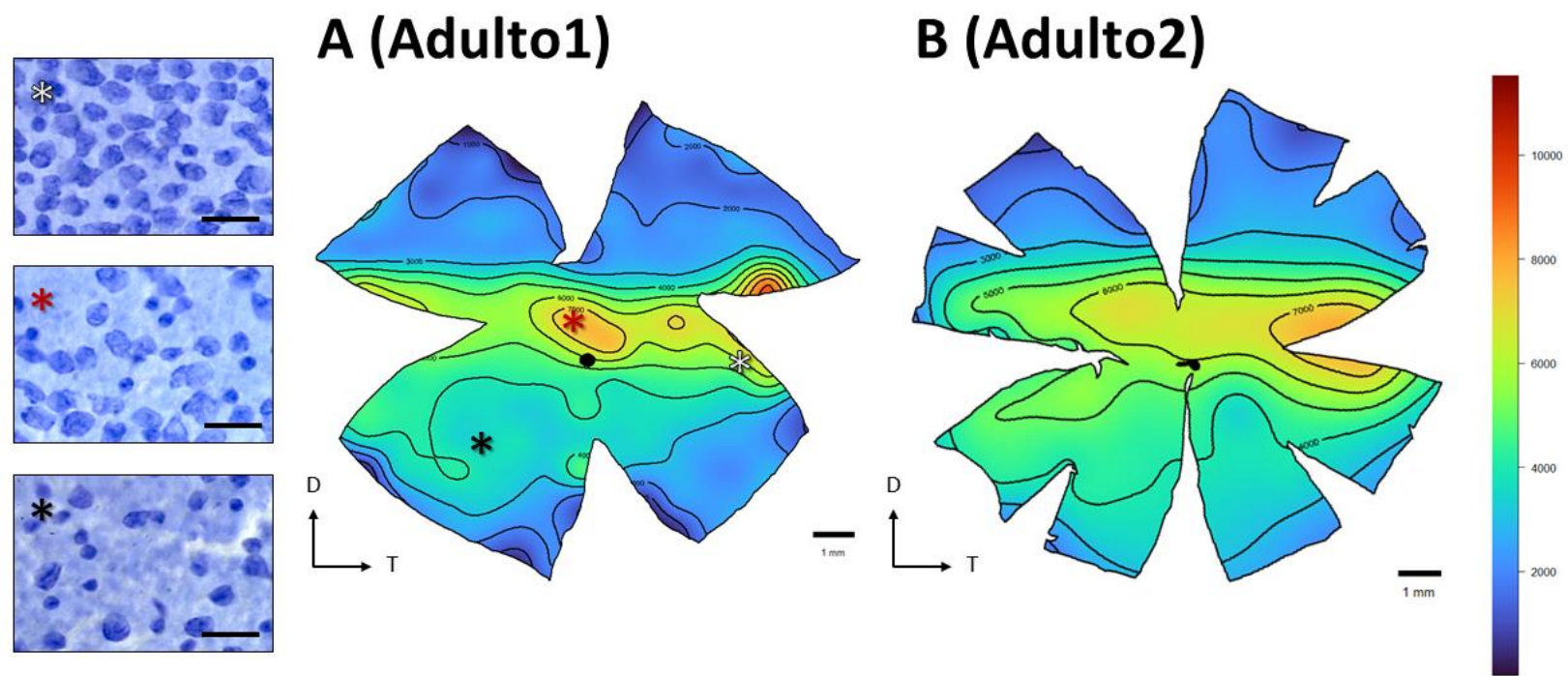


**Figura 15. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 30 posnatal (P30).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25  $\mu$ m. D = dorsal, T = temporal.



**Figura 16. Mapa de isodensidad de la retina del *Octodon degus* en el día 31 posnatal (P31).** Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25 µm. D = dorsal, T = temporal.



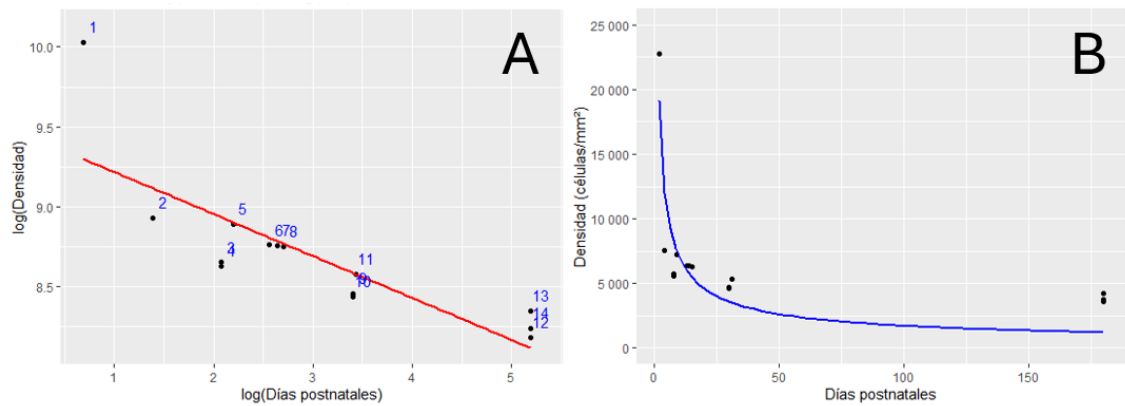


**Figura 17. Mapas de isodensidad de las retinas de *Octodon degus* de dos adultos.** Las imágenes con los asteriscos son representativas de la retina del adulto A. Los valores de la barra de color que acompañan a la retina, correspondiente a la densidad, están representados como células por mm<sup>2</sup>. Las imágenes de microscopía corresponden a las distintas zonas de la Capa de Células Ganglionares que están marcadas con los asteriscos. La barra de escala que acompaña a las imágenes corresponde a 25 μm. D = dorsal, T = temporal.

Al caracterizar la densidad de células en la CCG por grupo, como se observa en la Figura 18b, se puede observar que a medida que transcurre el desarrollo del roedor su número decae un 83,02% desde el nacimiento hasta la adultez. Esto a la par con los datos observados en las Figuras 7b y 8 da cuenta de que a medida que el área de la retina aumenta de tamaño, el número de células decae, y por consecuencia su densidad.

Al realizar un ajuste no lineal de los datos de la densidad presentados en la Tabla 11 (ver anexo), se observa que existe una caída en los valores mientras avanza el tiempo correspondiente a una función potencia del tipo  $f(x) = a \cdot x^b$ , con  $b < 0$ . Para corroborar esto, se realizó un ajuste lineal de los datos realizando un gráfico log (densidad) vs log (días) tal como se observa en la Figura 18a. Dicha curva presenta un coeficiente de correlación de -0,82, lo que respalda el ajuste lineal realizado.

De acuerdo con esto, se deriva la curva  $Densidad(Día) = 13095 \cdot Día^{-0,26}$  (Figura 18b), la cual describe el decaimiento de la densidad en función del tiempo y desarrollo del degú. Los valores de los distintos coeficientes están presentados en la Tabla 3.



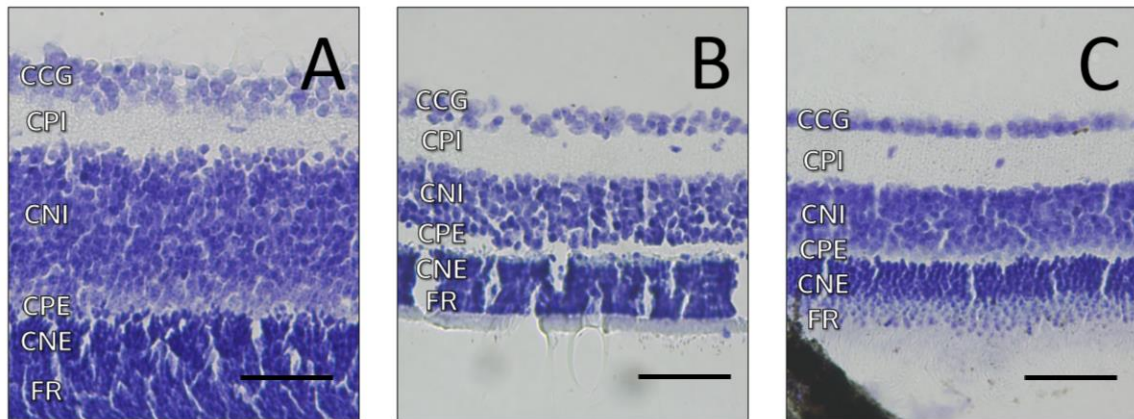
**Figura 18. Variación en la densidad de células en la CCG durante la ontogenia.** Como se observa en la figura, a medida que progresa el desarrollo del degú la densidad de células decae. (a) Corresponde al gráfico de log(densidad) vs log(día), con su respectivo ajuste lineal. (b) Corresponde al gráfico de densidad en función de los días, cuyo  $R^2$  es de 0,737.

**Tabla 3. Parámetros de los valores ajustados para la curva de densidad de células en la CCG de la retina del *Octodon degus*.**

	Valor	Desviación estándar
$\beta_0$	9,479	0,175
$\beta_1$	-0,263	0,015
<b>a</b>	13095,187	5128,807
<b>b</b>	-0,263	0,015

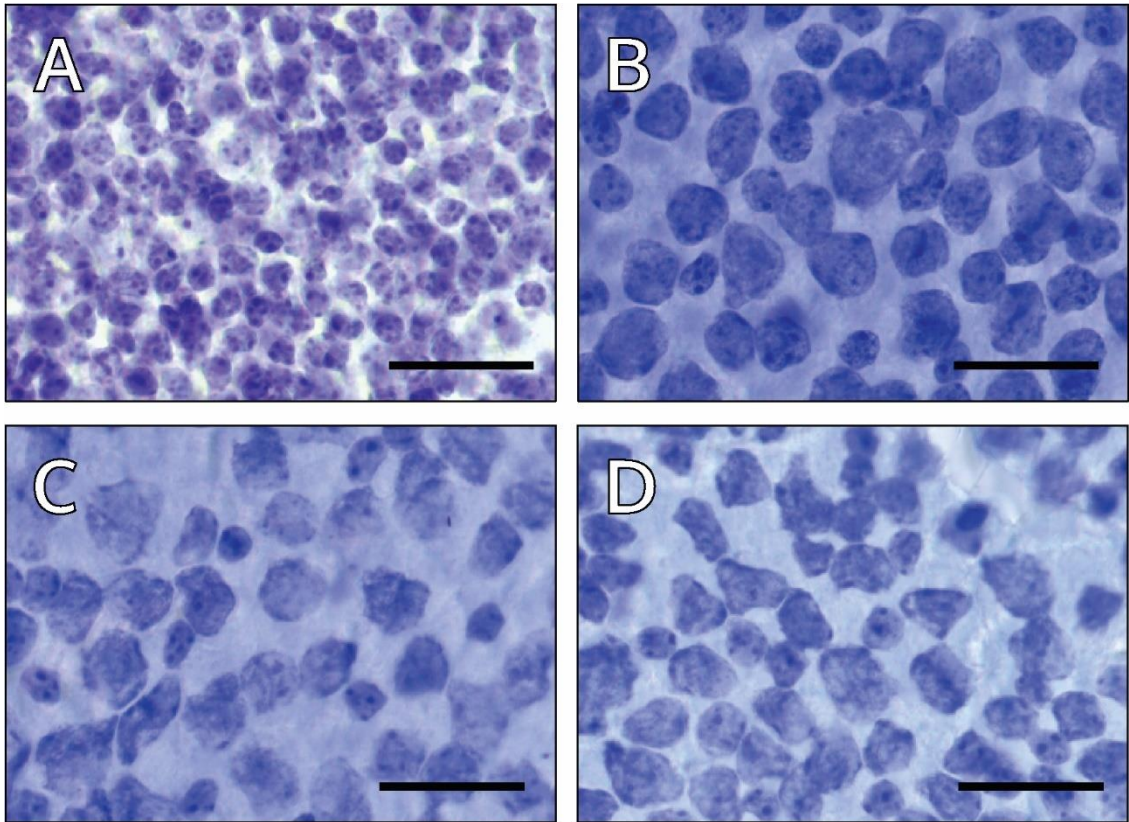
### 6.1.3 Tamaños celulares y distancia de los vecinos más cercanos

Cuando se observa la CCG en cortes en transverso realizados en diversos estadios postnatales, se puede observar el cómo varía el grosor de esta capa. En P03 se observa un grosor de 3-4 células, mientras que en P14 baja a 2-3 células y en P17 ya se observa una distribución más parecida al adulto de 1-2 células de grosor (Figura 19).



**Figura 19. Cortes en transverso de retinas en distintos estadios del desarrollo del *Octodon degus*.** En (A) P03, en (B) P14 y en (C) P17. FR = Fotorreceptores, CNE = Capa Nuclear Externa, CPE = Capa Plexiforme Externa, CNI = Capa Nuclear Interna, CPI = Capa Plexiforme Interna y CCG = Capa de Células Ganglionares. Barra de escala de 50  $\mu$ m.

Cuando se observa el wholemout de la CCG en los distintos estadios durante la ontogenia del degú, se pueden observar la existencia de cambios en la concentración, número y tamaño de CGR (Figura 20). En el estadio P02 se observa que las CGR están muy agrupadas entre sí, pero durante el desarrollo aumentan diferencialmente de tamaño, haciendo evidente la existencia de distintos tipos morfológicos de CGR. Por otra parte, se observan corpúsculos de Nissl, los cuales son gránulos formados por retículo endoplasmático rugoso y ARNm, y que están en grandes cantidades en células jóvenes, como en los estadios P02 y P08, pero durante la ontogenia el número de estos disminuye como se observa en los estadios P30 y en el adulto.

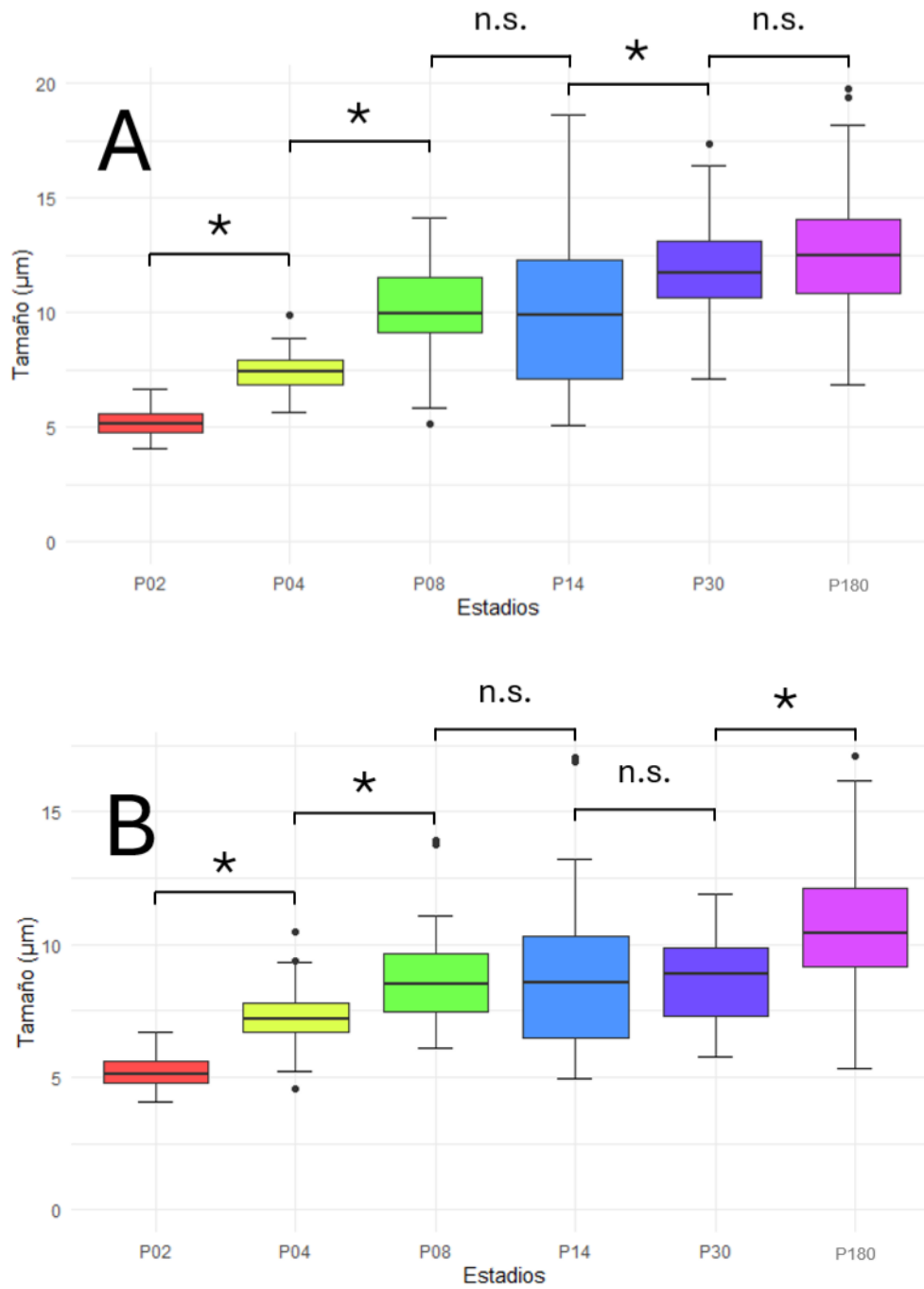


**Figura 20. Capa de Células Ganglionares de diferentes estadios del desarrollo del *Octodon degus* en las zonas de mayor densidad de las distintas retinas.** Se pueden observar cambios en la concentración de células, así como en su morfología y en la cantidad de corpúsculos de Nissl. (A) P02, (B) P08, (C) P15 y (D) P30. La barra de escala en las imágenes es de 25  $\mu\text{m}$ .

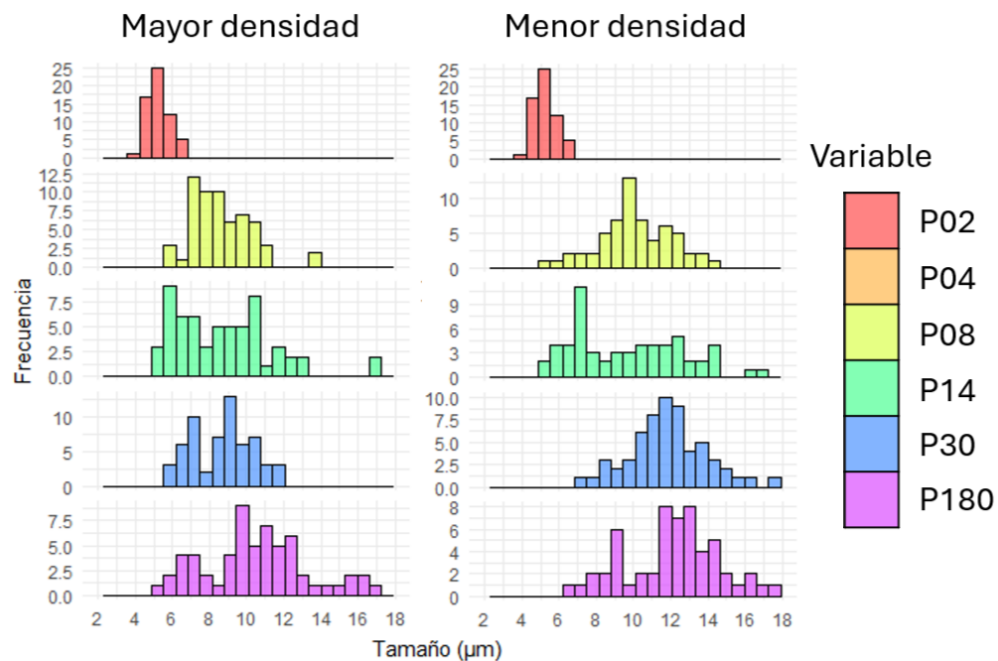
Para analizar mejor estos cambios, se realizó un análisis que consistió en medir el diámetro de las células en las zonas de mayor densidad (asociadas al centro de la retina) y en las zonas de menor densidad (asociadas a la periferia), así como medir la distancia entre las células mediante el NND, con el objetivo de comparar estas zonas y señalar los cambios que ocurren en estas durante la ontogenia.

Para observar los cambios que ocurren con los tamaños de la CCG, se llevaron a cabo una serie de mediciones en las zonas de menor y mayor densidad

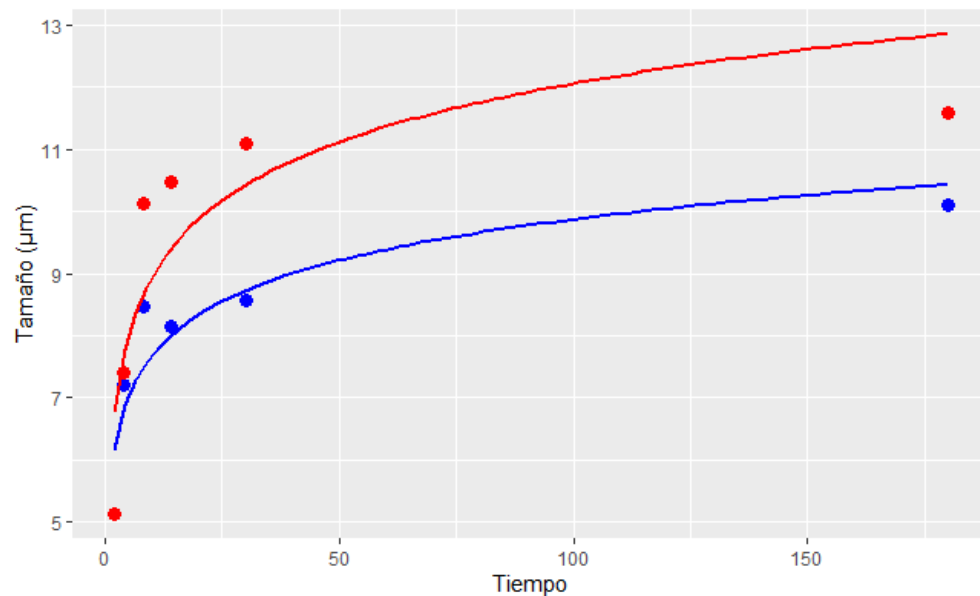
de cada una de las retinas. Para esto, se seleccionaron al azar 20 células de 3 fotos distintas en las zonas de menor y mayor densidad de cada una de las retinas, a las cuales se les midieron dos ejes con el objetivo de tener su diámetro. A partir de esto se obtuvo las Figuras 21a y 21b en la cual se puede observar que a medida que avanza la ontogenia del degú, el tamaño de sus células aumenta. Por otro lado, se observa que en la periferia de las retinas (menor densidad) el tamaño celular es mayor que en el centro (mayor densidad). Así mismo, en las Figuras 22a y 22b se caracteriza por mostrar la gran diversidad de tamaños que existe en la CCG debido al aumento progresivo de los rangos durante el desarrollo, tanto en el centro como en la periferia de las retinas, lo cual estaría asociado con distintas poblaciones de CGR que existen en esta capa. Por otro lado, la Figura 23 muestra la tendencia de las células que se ubican en la periferia de las retinas presentan medias de tamaño más altas que las del centro.



**Figura 21. Diferencias de tamaño de las células de la CCG en función de los distintos estadios del *Octodon degus* en las zonas de menor y mayor densidad de las retinas.** (a) periferia de la retina (menor densidad), y (b) cercano al centro de la retina (mayor densidad). En cada caja del gráfico se muestra el RIC, en esta la parte inferior corresponde al borde inferior definido como el primer cuartil ( $Q1$ ) -  $1,5 \cdot RIC$ , la parte central corresponde a la media, y el borde superior corresponde al tercer cuartil ( $Q3$ ) +  $1,5 \cdot RIC$ . Los asteriscos muestran diferencias significativas entre estadios consecutivos ( $p < 0,05$ ).



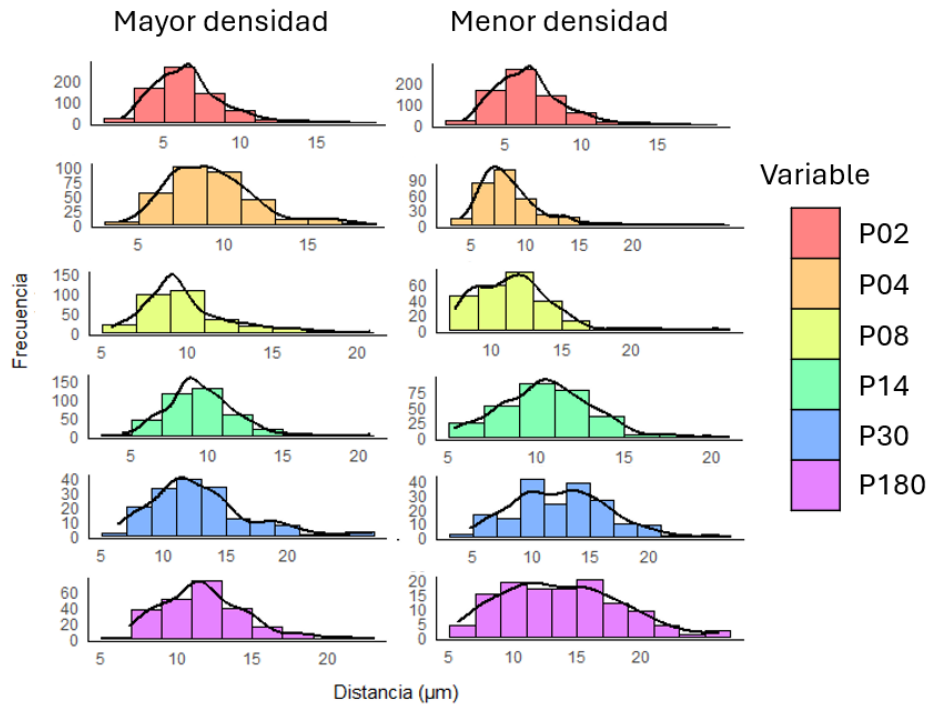
**Figura 22. Gráficos de frecuencias de las distintas CGR que hay en la CCG en retinas de distintos estadios del *Octodon degus* en la periferia y cercano al centro de la retina. (a) cercano al centro de la retina (mayor densidad), y (b) periferia de la retina (menor densidad).**



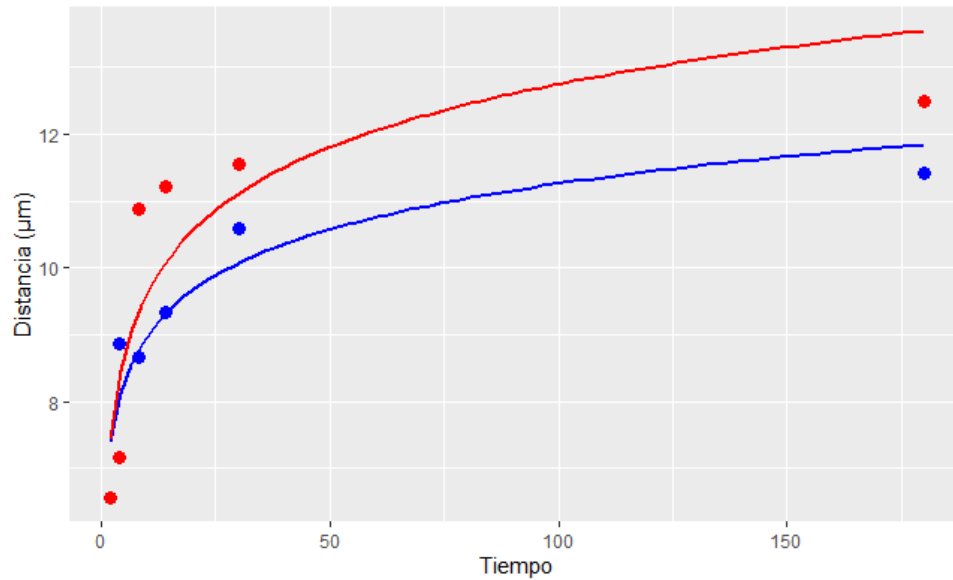
**Figura 23. Aumentos de tamaños durante la ontogenia.** En rojo se observan las medias en las células ganglionares de la periferia, mientras que en azul se observa las medias en las células ganglionares cercanas al centro. Para el primer caso se presenta una ecuación del tipo  $y = 5,89 \cdot x^{0,1632}$  con un  $R^2 = 0,64$ , mientras que en el segundo se presenta una ecuación del tipo  $y = 5,63 \cdot x^{0,1257}$  con un  $R^2 = 0,78$ .



Para poder evaluar cómo cambia la distancia entre las células ganglionares durante el desarrollo se calculó la distancia del vecino más cercano (NND). Según se puede observar en la Figura 24, en etapas tempranas del desarrollo (como P02) las células se encuentran muy juntas, tanto en el centro como en la periferia, pero durante el desarrollo estas se van alejando entre sí. Este fenómeno es diferencial en estas dos zonas, pues las células de la periferia se distancian más que las del centro de la retina (Figura 25).



**Figura 24. Distancias del vecino más cercano (NND) en las zonas de mayor y menor densidad de las retinas durante su ontogenia.** Como se puede observar, los histogramas están acompañados por curvas de densidad que muestran el cómo va cambiando el número de células en función de su distancia. Para las zonas de mayor densidad (izquierda) las medianas son P02 = 6,56 µm, P04 = 8,88 µm, P08 = 9,09 µm, P14 = 8,84 µm, P30 = 11,42 µm y P180 = 11,42 µm; mientras que para las zonas de menor densidad (derecha) las medianas son P02 = 6,56 µm, P04 = 7,17 µm, P08 = 11,91 µm, P14 = 10,48 µm, P30 = 13,47 µm y P180 = 11,52 µm.



**Figura 25. Aumentos de la distancia del vecino más cercano durante la ontogenia.** En rojo se observan las medias en las células ganglionares de la periferia, mientras que en azul se observa las medias en las células ganglionares cercanas al centro. Para el primer caso se presenta una ecuación del tipo  $y = 6,66 \cdot x^{0,1459}$  con un  $R^2 = 0,69$ , mientras que en el segundo se presenta una ecuación del tipo  $y = 6,88 \cdot x^{0,1094}$  con un  $R^2 = 0,84$ .

#### 6.1.4 Análisis estadístico

Para corroborar la normalidad de los datos del número de células en la CCG se procedió a realizar una prueba de Shapiro-Wilk entre los grupos antes señalados. Para ello se realizó un análisis en el programa RStudio el cual arrojó los valores que se muestran en la Tabla 4. En este análisis se considera como hipótesis nula (H0) que los datos siguen una distribución normal, mientras que la hipótesis alternativa (H1) corresponde a que los datos no siguen una distribución normal, además de considerar un valor de  $p < 0,05$  para evaluar la hipótesis de prueba.

**Tabla 4. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el número de células en la CCG.**

<b>Grupos</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>	<b>Valor de p</b>
<b>Grupo 1</b>	<i>No aplica</i>	<i>No aplica</i>
<b>Grupo 2</b>	<i>No aplica</i>	<i>No aplica</i>
<b>Grupo 3</b>	0,952	0,578
<b>Grupo 4</b>	0,894	0,368
<b>Grupo 5</b>	0,839	0,212
<b>Grupo 6</b>	0,914	0,432

Como se observa en la prueba, en los grupos 1 y 2 no fue posible aplicar la prueba dado que requiere de un mínimo de tres datos y estos grupos solo cuenta con un valor. Con respecto a los grupos 3, 4, 5 y 6, dado que el valor de p es mayor a 0,05 no se rechaza la H0 y se considera que los datos siguen una distribución normal.

Posteriormente, se quiso evaluar si existían diferencias significativas entre los grupos 2, 3, 4, 5 y 6, y considerando que el n muestral era reducido, que los datos no siguen un criterio de homocedasticidad, y que la especie presenta una diversidad inherente, se optó por realizar una prueba no paramétrica con la finalidad de comparar los grupos. En este caso, se optó por la prueba de Kruskal-Wallis.

Para esto se consideró como hipótesis nula (H0) que no hay diferencias significativas en el número de células en la CCG entre los grupos, mientras que la hipótesis alternativa (H1) corresponde a que hay al menos un grupo con una diferencia significativa. Se consideró un valor de  $p < 0,05$  para evaluar el estadístico de prueba. Tras realizar la prueba, el programa R arrojó los datos mostrados en la Tabla 5.

**Tabla 5. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los grupos 2, 3, 4, 5 y 6 de la variable número total de células en la CCG.**

<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b>		
<b>Chi-cuadrado</b>	7,289	5,154
<b>df</b>	5	3
<b>Valor de p</b>	0,199	0,161

De acuerdo con los análisis, el valor de p es de 0,199 por lo cual no hay evidencia suficiente para rechazar la H<sub>0</sub>, por lo cual no existe diferencia significativa en el número de células en la CCG entre los grupos 2, 3, 4, 5 y 6.

Luego se evaluó la correlación entre la densidad de células con el área de la retina, y realizando una prueba de Pearson se obtuvo como resultado -0,51, indicando que existe una correlación moderada entre la densidad con el área de la retina. Esto indica que en la medida que la retina aumenta de tamaño, la densidad de células disminuye.

Al analizar los tamaños celulares en el centro de la retina, se realizó nuevamente una prueba de Shapiro-Wilk, donde se consideró una hipótesis nula (H<sub>0</sub>) como que los datos siguen una distribución normal, y una hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>) correspondiente a que los datos no siguen una distribución normal, con un valor de p < 0,05 (Tabla 6). Luego, para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los grupos asociados al centro de la retina, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis donde consideró como hipótesis nula (H<sub>0</sub>) que no hay diferencias significativas en el tamaño de células entre los grupos, mientras que la hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>) corresponde a que hay al menos un grupo con una diferencia significativa. Estas mismas pruebas se realizaron para

los tamaños celulares de la periferia (Tabla 7 y Tabla 8).

**Tabla 6. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el tamaño de las células de la CCG en el centro de la retina.**

<b>Estadio</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>	<b>Valor de p</b>
<b>P02</b>	0,977	0,301
<b>P04</b>	0,964	0,078
<b>P08</b>	0,934	0,003
<b>P14</b>	0,927	0,001
<b>P30</b>	0,974	0,233
<b>P180</b>	0,973	0,198

De acuerdo con los datos, solo P08 y P14 no siguen una distribución normal, mientras que el resto sigue la distribución normal. Luego, se procedió a realizar una prueba de Kruskal-Wallis respectiva.

**Tabla 7. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los distintos grupos en el tamaño de las células en la CCG en el centro de la retina.**

<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b>	
<b>Chi-cuadrado</b>	178,32
<b>df</b>	5
<b>Valor de p</b>	$< 2,2 \times 10^{-16}$

Debido a que el valor de p es tan pequeño, se rechaza la H0 y se corrobora que existen diferencias significativas entre los grupos durante el desarrollo.

**Tabla 8. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Shapiro-Wilk sobre la normalidad en el tamaño de las células de la CCG en la periferia de la retina.**

<b>Estadio</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>	<b>Valor de p</b>
<b>P02</b>	0,301	0,301
<b>P04</b>	0,989	0,885
<b>P08</b>	0,987	0,782
<b>P14</b>	0,944	0,009
<b>P30</b>	0,987	0,776
<b>P180</b>	0,975	0,267

De acuerdo con los datos, solo P14 no sigue una distribución normal, mientras que el resto sigue la distribución normal. Luego se realizó la prueba de Kruskal-Wallis respectiva (Tabla 9).

**Tabla 9. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los distintos grupos en el tamaño de las células en la CCG en la periferia de la retina.**

<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b>	
<b>Chi-cuadrado</b>	228,78
<b>df</b>	5
<b>Valor de p</b>	$< 2,2 \times 10^{-16}$

Debido a que el valor de p es tan pequeño, se rechaza la H0 y se corrobora que existen diferencias significativas entre los grupos durante el desarrollo.

Para comparar los grupos entre el centro y la periferia de la retina se usó una prueba de Mann-Whitney, con un valor de  $p < 0,05$ , obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 10).

**Tabla 10. Valores de la prueba estadística y el valor de p para la prueba de Mann-Whitney para comparar los distintos grupos entre el centro y la periferia de la retina.**

<b>Estadio</b>	<b>Mann-Whitney</b>	<b>Valor de p</b>
<b>P02</b>	1800	1
<b>P04</b>	2039	0,211
<b>P08</b>	2646	$9,19 \times 10^{-6}$
<b>P14</b>	2207	0,03
<b>P30</b>	3230	$6,24 \times 10^{-14}$
<b>P180</b>	2489	$3,01 \times 10^{-4}$

De acuerdo con estos resultados, no hay diferencias significativas entre los estadios P02 y P04, mientras que si hay diferencias significativas entre los grupos P08, P14, P30 y P180.

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Análisis de los mapas topográficos

Como se observa en la Figura 7b, el área de la retina del degú comienza siendo pequeña en etapas tempranas del desarrollo postnatal y aumenta progresivamente con el tiempo. En el día 2 postnatal la retina presenta un valor de  $39,39 \text{ mm}^2$ , valor que aumenta hasta los  $62,05 \text{ mm}^2$  durante el primer mes del desarrollo, presentándose un aumento del 53,96%. Al llegar al 6to mes de vida, donde el animal ya presenta un tamaño adulto, el área de retina presenta un valor de  $95,53 \text{ mm}^2$ , lo que corresponde a un aumento de 53,96% desde el primer mes, y un aumento de 142,59% con respecto al día 2 postnatal.

Este aumento rápido de la retina durante el primer mes puede estar correlacionado con aspectos propios de su ecología tales como el hecho de que las crías del degú son destetadas alrededor de las 4-5 semanas, momento en que se aventuran fuera de la madriguera y su sistema visual se vuelve preponderante para su modo de vida. De hecho, la madurez sexual en estos animales en machos es a las 16 semanas (112 días) y en las hembras es entre las 12 a 16 semanas (84-112 días) (Bauer et al., 2014, 2019).

En la mayoría de los casos estudiados se observa este aumento lineal inicial del área de la retina, seguido de un crecimiento más progresivo y sostenido en la edad adulta (Robinson et al., 1989), aunque llama la atención que en degú



al primer mes la retina crezca a 2/3 de su tamaño total lo cual podría asociarse a la precocidad propia del modo de vida de este animal.

Con respecto al número total de células en la CCG, según se observa en la Figura 8, en el estadio P02 hay un total de 895.368 células en total, mientras que existe un descenso abrupto de casi el 60% del total de células en 2 días. Posteriormente, el total de células se mantiene constante en alrededor de 300.000 células en los estadios siguientes hasta el adulto. De hecho, al comparar estadísticamente entre los grupos 2, 3, 4, 5 y 6, se observa que no existen diferencias significativas entre estos grupos. Con esto se podría afirmar que durante el desarrollo la retina presenta una gran cantidad de células en etapas tempranas de su desarrollo postnatal y que, rápidamente, decae debido a la existencia de una poda de células.

Por otro lado, la pérdida de células desde estadios tempranos al adulto ya ha sido descrita previamente en otros modelos animales. En ratas albinas, en el estadio P01 se cuentan alrededor de 170.000 CGR, las que decaen rápidamente a 119.000 en el estadio P09 (Horsburgh & Sefton, 1987). En ratones, hámsteres, conejos, gatos y humanos sucede algo similar (Robinson et al., 1989). Diversos autores (Murakami et al., 1982; Stone, 1983) han atribuido esta pérdida diferencial de CGR a fenómenos tales como apoptosis, neurogénesis diferencial y muerte celular, los cuales ocurrirían abruptamente en un momento temprano, como en nuestro caso se observa que ocurre en el degú. Cabe preguntarse si esta disminución del número de células ocurre a la misma tasa tanto en el centro

de la retina como en su periferia. Como se mencionará más adelante, un análisis de este tipo puede dar algunas luces sobre ello en este modelo animal.

Cabe señalar que nuestro análisis de las etapas tempranas del desarrollo postnatal del degú presenta ciertas limitaciones, dado que para los estadios P02 y P04 solo se cuenta con una retina por estadio, a diferencia de las 3 cada una para los estadios posteriores. Por tanto, para dar una mayor solidez estadística a nuestras conclusiones se requiere analizar un número mayor de retinas en estadios tempranos.

Es curioso notar que el trabajo previo de Vega-Zuniga et al. (2013) se señala que la estimación de células en la CCG de la retina del adulto del degú es de 297.000 células. En este trabajo se encontró que los adultos tenían en promedio  $369.948 \pm 59.353$  células en la CCG (que incluye a CGR y CAd), esta evidente diferencia se debe a que los procedimientos estereológicos fueron realizados de manera distinta, así como los conteos y su posterior análisis. Mientras que en el primer caso usaron una cámara lúcida acoplada a un microscopio para dibujar los contornos de las retinas, en esta tesis se usó el software StereInvestigator® acoplado a un microscopio. Esto podría conllevar a diferencias significativas debido a la diferencia de los procedimientos en la obtención de los datos.

## 7.2 Especializaciones retinianas y densidad de la CCG

Como se mencionó en la introducción, las especializaciones retinianas son zonas de mayor densidad de CGR las cuales se asocian con un aumento de la agudeza visual. En el caso de la banda visual esta es la región de mayor densidad de células ganglionares en el eje naso-temporal, mientras que el área centralis es un área pequeña y circular, cuya ubicación sobre la retina se asocia a la porción del espacio donde el animal posee la mayor agudeza visual. Aunque esto último no es su única función, dado que ciertos autores como Rapaport & Stone (1984) indican que esta especialización retiniana se asocia con la zona de mayor traslape el eje de la visión binocular y discriminación estereoscópica.

Al observar los mapas topográficos de la retina del degú durante su ontogenia se observa que en etapas tempranas de su desarrollo (P02, Figura 9) presenta una distribución homogénea de células y sin presentar especializaciones retinianas. Además, presenta una densidad promedio de 22.736 células/mm<sup>2</sup>, lo cual es bastante alto considerando que su área retiniana es pequeña comparándola con el resto. Debido a que esta retina presenta una cantidad de células mucho mayor que las demás, se optó por usar una escala de colores distinta para que no afecte la visualización del resto de los mapas retinianos.

Como se puede observar en la Figura 10, el mapa del estadio P04 comienza a presentar un gradiente ventro-dorsal leve, el cual se correlaciona a

la vez con la disminución del número de células (7.569 células/mm<sup>2</sup>) y el aumento de su área en un 22,88%.

En el estadio P08 (Figura 11) se observa en el mapa de isodensidad que las células se organizan generando el inicio de una banda visual en el eje nasotemporal. Esta banda visual horizontal se vuelve más evidente al observar la Figura 12 correspondiente al estadio P09, dado que se presenta sobre el nervio óptico, característica que se repetirá en el resto de las retinas analizadas. Cabe señalar que este grupo de retinas (grupo 3) presenta una densidad promedio de 6.191 células/mm<sup>2</sup>, lo cual sería evidencia de la expansión que está ocurriendo en la retina y una posible muerte celular diferencial.

En el grupo 4, en donde se encuentran las retinas entre los estadios P13 al P15 (Figuras 13 y 14), se puede observar que se vuelve más evidente esta banda visual horizontal sobre el nervio óptico, la cual es más acentuada, además de que entre P14 a P15 se observa la aparición de un área centralis hacia el eje temporal de la retina, además de que el eje ventro-dorsal vuelve más evidente. Este grupo se caracteriza por presentar una densidad promedio de 6.346 células/mm<sup>2</sup>, lo cual no es significativamente distinto al grupo anterior.

En el grupo 5, que agrupa los estadios P30 y P31 (Figuras 15 y 16), se observa que la banda visual horizontal se define más, mientras que el área centralis en temporal y el gradiente ventro-dorsal son más claros. Por otro lado, la densidad promedio de este grupo es de 4.881 células/mm<sup>2</sup>, lo que corresponde

a un 23,09% menos que el grupo anterior. Tras este primer mes de desarrollo, se observa una caída abrupta del 78,53% a partir del valor obtenido en el estadio 2 postnatal. Esto refleja que la retina aumenta mucho de tamaño, alrededor de un 54% desde el estadio P02, además de la caída del 60% del total de células. Este fenómeno estaría asociado, como se mencionó antes, por una expansión diferencial de la retina, además de la muerte celular diferencial que estaría ocurriendo en el tejido que permitiría la aparición y acentuación de estas especializaciones retinianas.

En el grupo 6, donde se encuentran los estadios 180 postnatales, Figura 17, muestra retinas bastante parecidas a las obtenidas por Vega-Zuniga et al. (2013), donde se hacen evidentes estas dos especializaciones retinianas antes descritas, además de este gradiente ventro-dorsal. Así mismo, la densidad de células se estabiliza en 3.869 células/mm<sup>2</sup>.

Al observar la Figura 18, se hace evidente una caída abrupta inicial de la densidad en la primera semana del desarrollo del degú, seguido de una caída más paulatina durante el tiempo. Además, considerando los mapas de isodensidad, se puede dar cuenta que la retina del degú presenta una maduración y refinamiento en sus especializaciones retinianas. Se vuelve evidente al observar estos mapas de isodensidad del degú que la retina comienza siendo homogénea en toda su extensión en etapas tempranas de su desarrollo, hasta que aparece el gradiente ventro-dorsal en el día 4 postnatal. Luego, durante la primera semana aparecería la banda visual en el eje naso-temporal, y luego

en el primer mes aparecería el área centralis hacia el eje temporal. Esto va de la mano del hecho en que, como se describió previamente, el degú se aventura a abandonar la madriguera y explora el mundo con sus ojos. Esto se correlacionaría con el hecho de que comienza a buscar alimento, a manipular cosas con las patas, además de poder observar a los posibles depredadores que podrían cazarlos, tales como zorros culpeo y lechuzas, Ya teniendo un tamaño de adulto, alrededor de los 6 meses, sus retinas poseen especializaciones más marcadas, dado que estas se refinaron a partir de su experiencia en el mundo como responder a estímulos aversivos, socializar entre ellos y buscar alimento y pareja. De hecho, se podría pensar que esta área central más definida podría tener un correlato con un aumento progresivo de la visión binocular del animal, sumado a vías visuales más refinadas, además de la posición de los ojos los cuales podrían frontalizarse con el tiempo.

Para finalizar, la correlación existente entre la densidad celular y el área de la retina se obtiene un valor de -0,51 lo que indica que a medida que la retina aumenta su tamaño, su densidad celular decae.

### **7.3 Tamaños celulares y distancias de los vecinos más cercanos**

Con respecto a los tamaños celulares de las CGR, si comenzamos a analizar las etapas tempranas del desarrollo del degú podemos darnos cuenta de que la CCG en el estadio P03 presenta muchas células, las cuales están muy agrupadas, con un grosor de 3-5 células en esta capa (Figura 19). Esto va de la

mano con la alta densidad presentada en el mapa del estadio 2 postnatal de la retina del degú (Figuras 8 y 9), en la cual se observó un gran número de células en un área pequeña. Esto también queda de manifiesto al observar la Figura 20a, dado que muestra la evidente agrupación que existe sobre el tejido en este estadio.

Este fenómeno en las células no es constante en el tiempo, dado que si observamos la Figura 20a y la contrastamos con la Figura 20d, es evidente que las células se separan con el tiempo. Esto iría de la mano con el aumento del área de la retina, pues en la medida en que la retina aumenta de tamaño las GCR se separan a una cierta tasa.

También podemos observar que el crecimiento de las células de la CCG no es uniforme en toda la retina, pues durante la ontogenia las células de la periferia crecen más que en el centro (Figura 21). Este aumento diferencial entre ambas zonas de la retina presenta un comportamiento potencial, donde en la primera semana presenta un aumento lineal en ambos casos, para luego ir aumentando un poco más lento durante el tiempo (Figura 23).

También se analizó el cuánto se separaban las células de la CCG durante la ontogenia mediante el análisis de la distancia del vecino más cercano (NND), y se encontró nuevamente que las CGR de la periferia se distancian más entre ellas que las que se ubican en el centro (Figura 24 y 25). Esto pone de manifiesto que la extensión de la retina no es uniforme en todo el tejido, sino que se expande

más hacia la periferia que en el centro. De hecho, la tasa de expansión y la tasa de aumento de tamaño en las células de la CCG es bastante similar en ambas, salvo con la diferencia que la periferia las células se expanden y crecen a una tasa mayor que el centro. Este fenómeno es llamativo dado que mientras que las células de la periferia se separan más, también les permite crecer más durante la ontogenia que en el centro.

Esta diferencia de tamaños, generada por tener una mayor área para crecer y diversificarse, puede ser explicada por la aparición de diversas subpoblaciones de células en la CCG. Según se describe en la literatura, a partir de criterios fisiológicos, morfológicos y moleculares es posible distinguir más de 30 tipos de CGR en el ratón (Sanes & Masland, 2015), dado que sobre la CCG se presenta una configuración que asemeja a un mosaico en donde existen estas distintas subpoblaciones. Basándonos solo en criterios de tamaño, como se observa en la Figura 22, los histogramas de frecuencia muestran la gran diversidad que hay de CGR en la CCG de la retina del degú a partir de los diversos máximos en los gráficos. Este fenómeno ocurre tanto a nivel central (donde existe una mayor densidad de células) como en la periferia (donde hay menor densidad celular). Estas subpoblaciones de CGR se deben a que cada célula ganglionar es sensible a distintas características visuales, las cuales también pueden generar distintos mapas en las zonas retinorecipientes del cerebro. Los estudios han concluido que, por ejemplo, las distintas vías que proyectan las CGR atienden un aspecto específico del procesamiento visual en



los animales presentándose distintas capas en el colículo superior y láminas en el geniculado lateral en ratones (Dhande & Huberman, 2014), hallándose un total de 46 regiones en las que se proyectan las CGR en estos animales (Morin & Studholme, 2014). Algo similar se ha descrito en peces cebras donde se han encontrado que en el tracto óptico hay más de 50 tipos distintos de CGR que proyectan a distintas subdivisiones a nivel del pretectum (Robles et al., 2014). Hace falta un estudio más cualitativo en la retina del degú para poder identificar estas diferentes subpoblaciones presentes en la CCG.

#### **7.4 Características de la ontogenia en la retina del *Octodon degus***

El degú se caracteriza por ser un animal diurno que posee un fuerte comportamiento social, además de ser precocial y visualmente activo. Este animal abre los ojos muy tempranamente durante su desarrollo, a diferencia de otros roedores quienes lo hacen más tardíamente (Reynolds & Wright, 1979).

Como se ha descrito, la retina del degú presenta un intrincado proceso en la formación de sus especializaciones retinianas. Comienza siendo una retina homogénea, con un alto número de células en un área pequeña y una alta densidad celular, la cual se va transformando paulatinamente a una retina con dos especializaciones retinianas claves: una banda visual en el eje naso-temporal y un área centralis hacia el eje temporal. Sumado a estas especializaciones se presenta un gradiente ventro-dorsal (Figura 26).

Previo a la aparición de las especializaciones retinianas hay una gran

muerte celular de CGR en las etapas tempranas del desarrollo postnatal del degú. Posteriormente, aparecen las especializaciones retinianas las cuales se originan con el aumento progresivo del área de la retina durante el primer mes de su desarrollo, además de la maduración de las CGR en la CCG, pues aumentan de tamaño y se generan distintas subpoblaciones en todo el tejido.

Sumado a esto, los cambios que ocurren en la periferia como en el centro de la retina no son iguales, ya que en el primero existe un mayor aumento en la distancia entre las células mientras que en el segundo el aumento es menor, además de que el tamaño promedio de las células ganglionares repite el mismo patrón.

Esta aparición y refinamiento de las especializaciones retinianas se asocia con la ecología visual del degú y su comportamiento, pues como se ha descrito son animales precociales que nacen con los ojos abiertos, sumado al hecho de que durante el primer mes abandonan la madriguera y requieren una buena visión debido a que necesitan buscar alimento, relacionarse con otros individuos de su especie y evitar depredadores. Cabe señalar que en un trabajo reciente realizado por Deichler et al. (2020) muestran que la parte aérea del campo visual del degú es sensible a movimientos amenazantes, teniendo conductas de evitamiento (congelamiento y escape) cuando se le presentan dichos estímulos. Estos se asociarían con elementos conservadores de la organización funcional de las proyecciones parabigemino-tectales presentes en este roedor. De esta manera, se puede pensar que el desarrollo de la banda visual y el área centralis hacia temporal contribuye a desarrollar tales respuestas.

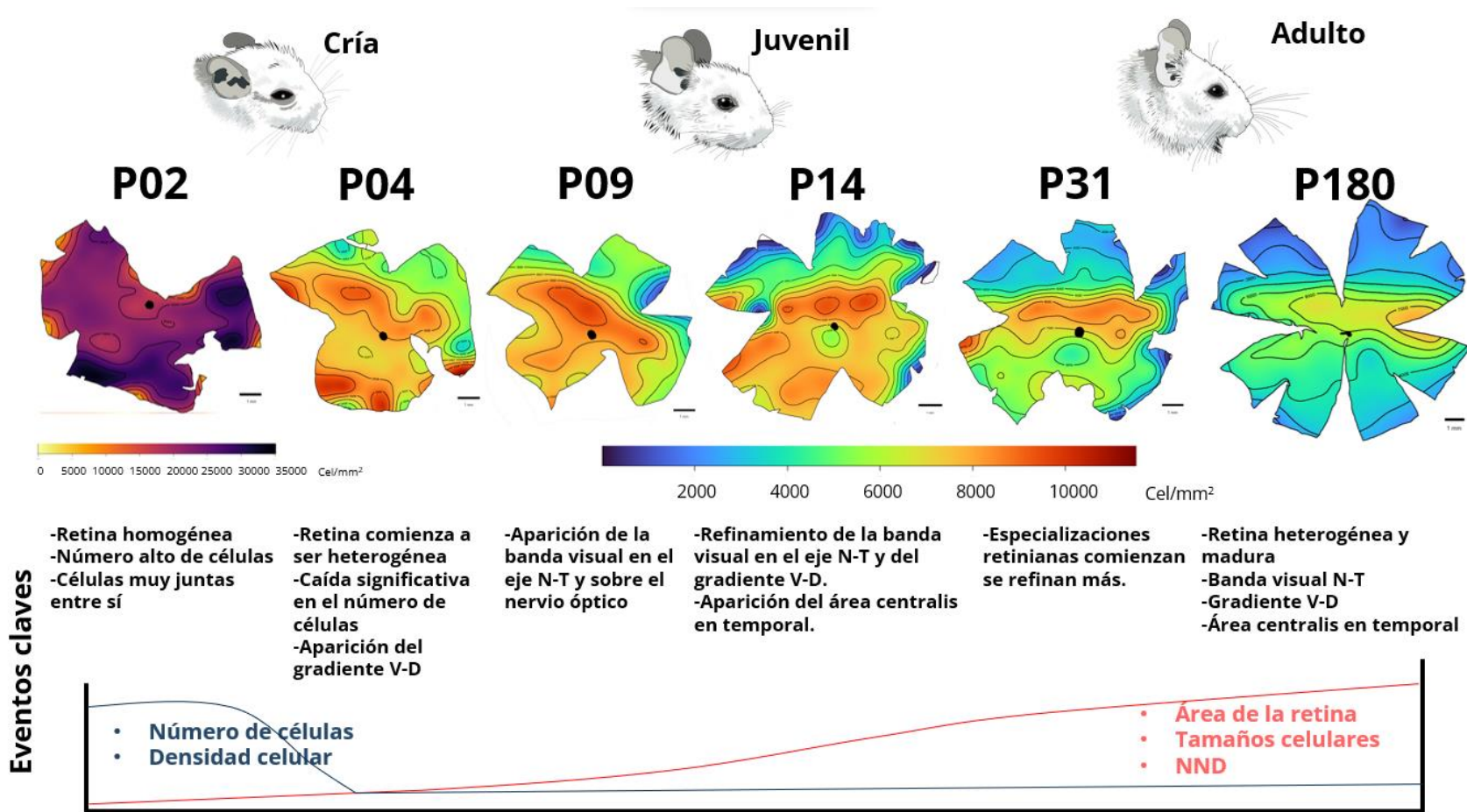


Figura 26. Resumen de los eventos más importante en el desarrollo y aparición de especializaciones retinianas del *Octodon degus*.

## 8. CONCLUSIONES

- La retina del *Octodon degus* experimenta un intrincado proceso de maduración postnatal, el cual comienza sin especializaciones, pero estas aparecen alrededor del día 09 y se acentúan en el adulto.
- Durante el desarrollo se observa la aparición de dos estructuras retinianas en el degú: la banda visual en el eje naso-temporal y un área centralis hacia temporal. Además, se genera un gradiente ventro-dorsal.
- El desarrollo de la retina conlleva la disminución inicial en el número de células, y una disminución abrupta inicial de la densidad total en la CCG seguida de una disminución paulatina subsecuente que se asocia con el aumento sostenido del área total de la retina.
- Los resultados sugieren que las diferencias en el tamaño y número de células ocurren simultáneamente con un crecimiento asimétrico del área de la retina, dando lugar a un conjunto de especializaciones retinianas estrechamente relacionadas con el modo de vida visual de esta especie.
- Los datos sugieren que el crecimiento asimétrico de la retina juega un rol importante en la formación de las especializaciones retinianas.
- El papel de la experiencia visual temprana en la maduración de las asimetrías retinianas requiere ser investigado a fondo.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Baden, T., Berens, P., Franke, K., Román Rosón, M., Bethge, M., & Euler, T. (2016). The functional diversity of retinal ganglion cells in the mouse. *Nature*, 529(7586), 345-350. <https://doi.org/10.1038/nature16468>
- Baden, T., Euler, T., & Berens, P. (2020). Understanding the retinal basis of vision across species. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(1), 5-20. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0242-1>
- Bauer, C. M., Correa, L. A., Ebensperger, L. A., & Romero, L. M. (2019). Stress, sleep, and sex: A review of endocrinological research in *Octodon degus*. *General and Comparative Endocrinology*, 273, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.03.014>
- Bauer, C. M., Hayes, L. D., Ebensperger, L. A., & Romero, L. M. (2014). Seasonal variation in the degu (*Octodon degus*) endocrine stress response. *General and Comparative Endocrinology*, 197, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.11.025>
- Blanco, R., Vaquero, C. F., & de la Villa, P. (1996). Action potentials in axonless horizontal cells isolated from the rabbit retina. *Neuroscience Letters*, 203(1), 57-60. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)12263-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)12263-X)
- Chow, R. L., & Lang, R. A. (2001). Early Eye Development in Vertebrates. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 17(1), 255-296. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.255>

- Collin, S. P. (1999). Chapter 16 Behavioural ecology and retinal cell topography. En *Adaptative mechanisms in ecology of vision* (First edition, pp. 509-535). Springer-Science+Business Media, B.V.
- Cook, J. E. (1996). Spatial properties of retinal mosaics: An empirical evaluation of some existing measures. *Visual Neuroscience*, 13(1), 15-30. <https://doi.org/10.1017/s0952523800007094>
- Cronin, T. W., Jonhsen, S., Marshall, J., & Warrant, E. J. (2014). Chapter 6 Spatial Vision. En *Visual Ecology* (First edition, pp. 116-145). Princeton University Press.
- Deichler, A., Carrasco, D., Lopez-Jury, L., Vega-Zuniga, T., Márquez, N., Mpodozis, J., & Marín, G. J. (2020). A specialized reciprocal connectivity suggests a link between the mechanisms by which the superior colliculus and parabigeminal nucleus produce defensive behaviors in rodents. *Scientific Reports*, 10(1), 16220. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72848-0>
- Dhande, O. S., & Huberman, A. D. (2014). Retinal ganglion cell maps in the brain: Implications for visual processing. *Current opinion in neurobiology*, 24(1), 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.08.006>
- Diamond, J. S. (2017). Inhibitory Interneurons in the Retina: Types, Circuitry, and Function. *Annual Review of Vision Science*, 3(1), 1-24. <https://doi.org/10.1146/annurev-vision-102016-061345>
- D'Souza, S., & Lang, R. A. (2020). Retinal ganglion cell interactions shape the developing mammalian visual system. *Development*, 147(23), dev196535.

<https://doi.org/10.1242/dev.196535>

- D'Souza, S. P., Swygart, D. I., Wienbar, S. R., Upton, B. A., Zhang, K. X., Mackin, R. D., Casasent, A. K., Samuel, M. A., Schwartz, G. W., & Lang, R. A. (2022). Retinal patterns and the cellular repertoire of neuropsin (Opn5) retinal ganglion cells. *The Journal of Comparative Neurology*, *530*(8), 1247-1262. <https://doi.org/10.1002/cne.25272>
- Field, G. D., & Chichilnisky, E. J. (2007). Information processing in the primate retina: Circuitry and coding. *Annual Review of Neuroscience*, *30*, 1-30. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094252>
- Garza-Gisholt, E., Hemmi, J. M., Hart, N. S., & Collin, S. P. (2014). A Comparison of Spatial Analysis Methods for the Construction of Topographic Maps of Retinal Cell Density. *PLoS ONE*, *9*(4), e93485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093485>
- Gilbert, S. F. (2014). Chapter 10 The emergence of ectoderm: Central nervous system and epidermis. En *Developmental biology* (Tenth edition, pp. 333-374). Sinauer Associates, Inc.
- Glaser, E. M., & Wilson, P. D. (1998). The coefficient of error of optical fractionator population size estimates: A computer simulation comparing three estimators. *Journal of Microscopy*, *192*(2), 163-171. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.1998.00417.x>
- Horsburgh, G. M., & Sefton, A. J. (1987). Cellular degeneration and synaptogenesis in the developing retina of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *263*(4), 553-566.

<https://doi.org/10.1002/cne.902630407>

Hughes, A. (1975). A comparison of retinal ganglion cell topography in the plains and tree kangaroo. *The journal of Physiology*, 244(1), 61P-63P.

Hughes, A. (1977). The Topography of Vision in Mammals of Contrasting Life Style: Comparative Optics and Retinal Organisation. En F. Crescitelli (Ed.), *The Visual System in Vertebrates: Vol. 7 / 5* (pp. 613-756). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-66468-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-66468-7_11)

Jacobs, G. H., Calderone, J. B., Fenwick, J. A., Krogh, K., & Williams, G. A. (2003). Visual adaptations in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 189(5), 347-361. <https://doi.org/10.1007/s00359-003-0408-0>

Koenig, K. M., & Gross, J. M. (2020). Evolution and development of complex eyes: A celebration of diversity. *Development*, 147(19), dev182923. <https://doi.org/10.1242/dev.182923>

Koeppen, B., & Staton, B. (2018). 8 The special senses. En *Berne & Levy physiology* (Seventh edition, pp. 127-160). Elsevier.

Kolb, H., Nelson, R., Ahnelt, P., & Cuenca, N. (2001). Chapter 1 Cellular organization of the vertebrate retina. En *Progress in Brain Research* (Vol. 131, pp. 3-26). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)31005-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(01)31005-1)

Lamb, T. D., Collin, S. P., & Pugh, E. N. (2007). Evolution of the vertebrate eye: Opsins, photoreceptors, retina and eye cup. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(12), 960-976. <https://doi.org/10.1038/nrn2283>

Lee, Barry. B. (2008). The evolution of concepts of color vision. *Neurociencias*,



4(4), 209-224.

Lia, B., Williams, R. W., & Chalupa, L. M. (1987). Formation of Retinal Ganglion Cell Topography During Prenatal Development. *Science*, 236(4803), 848-851. <https://doi.org/10.1126/science.3576202>

Masland, R. H. (2012). The Neuronal Organization of the Retina. *Neuron*, 76(2), 266-280. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.10.002>

Mastrorarde, D. N., Thibeault, M. A., & Dubin, M. W. (1984). Non-uniform postnatal growth of the cat retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 228(4), 598-608. <https://doi.org/10.1002/cne.902280410>

Moore, B. A., Tyrrell, L. P., Kamilar, J. M., Collin, S. P., Dominy, N. J., Hall, M. I., Heesy, C. P., Lisney, T. J., Loew, E. R., Moritz, G. L., Nava, S. S., Warrant, E., Yopak, K. E., & Fernández-Juricic, E. (2017). Structure and Function of Regional Specializations in the Vertebrate Retina. En *Evolution of Nervous Systems* (pp. 351-372). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804042-3.00008-7>

Morin, L. P., & Studholme, K. M. (2014). Retinofugal Projections in the Mouse. *The Journal of comparative neurology*, 522(16), 3733-3753. <https://doi.org/10.1002/cne.23635>

Murakami, D., Sesma, M. A., & Rowe, M. H. (1982). Characteristics of Nasal and Temporal Retina in Siamese and Normally Pigmented Cats: *Brain, Behavior and Evolution*, 21, 67-113.

Peichlcu, L. (1992). Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina. *Journal of Comparative Neurology*, 324(4), 603-620.

<https://doi.org/10.1002/cne.903240412>

Purves, D. (2018). 11 Vision: The eye. En *Neuroscience* (Sixth edition, pp. 233-259). Oxford University Press.

Rapaport, D. H., & Stone, J. (1984). The area centralis of the retina in the cat and other mammals: Focal point for function and development of the visual system. *Neuroscience*, 11(2), 289-301. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90024-1)

Reynolds, T. J., & Wright, J. W. (1979). Early postnatal physical and behavioural development of degus (*Octodon degus*). *Laboratory Animals*, 13(2), 93-99. <https://doi.org/10.1258/002367779780943576>

Rheume, B. A., Jereen, A., Bolisetty, M., Sajid, M. S., Yang, Y., Renna, K., Sun, L., Robson, P., & Trakhtenberg, E. F. (2018). Single cell transcriptome profiling of retinal ganglion cells identifies cellular subtypes. *Nature Communications*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05134-3>

Robinson, S. R., Dreher, B., & McCall, M. J. (1989). Nonuniform retinal expansion during the formation of the rabbit's visual streak: Implications for the ontogeny of mammalian retinal topography. *Visual Neuroscience*, 2(3), 201-219. <https://doi.org/10.1017/S0952523800001139>

Robles, E., Laurell, E., & Baier, H. (2014). The Retinal Projectome Reveals Brain-Area-Specific Visual Representations Generated by Ganglion Cell Diversity. *Current Biology*, 24(18), 2085-2096. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.07.080>

- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2015). 24 El ojo. En *Histología, texto y atlas* (Séptima edición, pp. 965-1001). Wolters Kluwer.
- Sanes, J. R., & Masland, R. H. (2015). The Types of Retinal Ganglion Cells: Current Status and Implications for Neuronal Classification. *Annual Review of Neuroscience*, 38(1), 221-246. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-034120>
- Soto, C. (2011). *Contribución espectral diferenciada a las vías ON y OFF en la retina de Octodon degus*. [Tesis de Doctorado]. Universidad de Valparaíso.
- Stone, J. (1983). On the Understanding of Retinal Topography. En J. Stone (Ed.), *Parallel Processing in the Visual System: The Classification of Retinal Ganglion Cells and its Impact on the Neurobiology of Vision* (pp. 265-323). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4433-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4433-9_9)
- Surrridge, A. K., Osorio, D., & Mundy, N. I. (2003). Evolution and selection of trichromatic vision in primates. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(4), 198-205. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00012-0)
- Ullmann, J. F. P., Moore, B. A., Temple, S. E., Fernández-Juricic, E., & Collin, S. P. (2012). The Retinal Wholemount Technique: A Window to Understanding the Brain and Behaviour. *Brain, Behavior and Evolution*, 79(1), 26-44. <https://doi.org/10.1159/000332802>
- Vega-Zuniga, T., Medina, F. S., Fredes, F., Zuniga, C., Severín, D., Palacios, A. G., Karten, H. J., & Mpodozis, J. (2013). Does Nocturnality Drive Binocular Vision? Octodontine Rodents as a Case Study. *PLoS ONE*, 8(12), e84199.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084199>

- Voogd, J., Nieuwenhuys, R., Van Dongen, P. A. M., & Donkelaar, H. J. (1998). Chapter 22 Mammals. En *The central nervous system of vertebrates* (Vol. 3, pp. 1637-2097). Springer-Verlag.
- West, M. J. (1993). New stereological methods for counting neurons. *Neurobiology of Aging*, 14(4), 275-285. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(93\)90112-O](https://doi.org/10.1016/0197-4580(93)90112-O)
- Wong, R. O. L., & Godinho, L. (2003). Development of the Vertebrate Retina. En L. M. Chalupa & J. S. Werner (Eds.), *The Visual Neurosciences*, 2-vol. Set (p. 0). The MIT Press. <https://doi.org/10.7551/mitpress/7131.003.0010>
- Yan, R.-S., Yang, X.-L., Zhong, Y.-M., & Zhang, D.-Q. (2020). Spontaneous Depolarization-Induced Action Potentials of ON-Starburst Amacrine Cells during Cholinergic and Glutamatergic Retinal Waves. *Cells*, 9(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/cells9122574>

## 10. ANEXO

**Tabla 11. Datos estereológicos del número total de células en la Capa de Células Ganglionares (CCG) obtenidos a partir de software Stereoinvestigator para los distintos estadios del *Octodon degus*.**

Animal	Día	Número de sitios contados	Marcadores totales	Área de la retina (mm <sup>2</sup> )	Número total de células estimado en la CCG	Densidad (células/mm <sup>2</sup> )	Coefficiente de error de Schaffer
P2	2	79	62.664	39,38	895.368	22.734	0,05
P4	4	68	18.330	48,39	366.250	7.569	0,04
P08*	8	77	14.448	50,40	288.684	5.728	0,06
P08-2*	8	68	13.245	47,37	264.647	5.587	0,06
P09	9	66	17.186	47,31	343.392	7.258	0,04
<b>PROMEDIO</b>		<b>70,33</b>	<b>14.960</b>	<b>48,36</b>	<b>298.908</b>	<b>6.191</b>	<b>0,053</b>
<b>SD</b>		<b>5,86</b>	<b>2.020</b>	<b>1,77</b>	<b>40.356</b>	<b>927</b>	<b>0,008</b>
<b>CV<sup>2</sup> = SD<sup>2</sup>/PROM<sup>2</sup></b>					<b>0,018</b>		
<b>CE<sup>2</sup></b>					<b>0,003</b>		
<b>CE<sup>2</sup>/CV<sup>2</sup></b>					<b>0,157</b>		
P13	13	67	15.601	48,91	311.722	6.373	0,05
P14	14	77	17.409	54,73	347.847	6.356	0,05
P15	15	81	17.868	56,58	357.019	6.310	0,04
<b>PROMEDIO</b>		<b>75,00</b>	<b>16.959</b>	<b>53,41</b>	<b>338.863</b>	<b>6.346</b>	<b>0,049</b>
<b>SD</b>		<b>7,21</b>	<b>1.199</b>	<b>4,00</b>	<b>23.948</b>	<b>33</b>	<b>0,007</b>
<b>CV<sup>2</sup> = SD<sup>2</sup>/PROM<sup>2</sup></b>					<b>0,005</b>		
<b>CE<sup>2</sup></b>					<b>0,002</b>		
<b>CE<sup>2</sup>/CV<sup>2</sup></b>					<b>0,481</b>		
P30	30	83	14.310	60,65	285.927	4.715	0,06
P30-2	30	83	13.886	60,06	277.455	4.619	0,05

P31	31	92	17.387	65,45	347.408	5.308	0,05
<b>PROMEDIO</b>		<b>86,00</b>	<b>15.194,33</b>	<b>62,05</b>	<b>303.597</b>	<b>4.881</b>	<b>0,053</b>
<b>SD</b>		<b>5,20</b>	<b>1.910,70</b>	<b>2,95</b>	<b>38.177</b>	<b>373</b>	<b>0,005</b>
<b>CV<sup>2</sup> = SD<sup>2</sup>/PROM<sup>2</sup></b>					<b>0,016</b>		
<b>CE<sup>2</sup></b>					<b>0,003</b>		
<b>CE<sup>2</sup>/CV<sup>2</sup></b>					<b>0,176</b>		
P180-1	180	165	21.217	84,65	303.156	3.581	0,04
P180-2	180	135	20.852	98,79	416.642	4.217	0,04
P180-3	180	144	19.521	103,17	390.047	3.781	0,04
<b>PROMEDIO</b>		<b>148,00</b>	<b>20.530,00</b>	<b>95,53</b>	<b>369.948</b>	<b>3.860</b>	<b>0,041</b>
<b>SD</b>		<b>15,39</b>	<b>892,67</b>	<b>9,68</b>	<b>59.353</b>	<b>325</b>	<b>0,002</b>
<b>CV<sup>2</sup> = SD<sup>2</sup>/PROM<sup>2</sup></b>					<b>0,026</b>		
<b>CE<sup>2</sup></b>					<b>0,002</b>		
<b>CE<sup>2</sup>/CV<sup>2</sup></b>					<b>0,066</b>		