

UCH-FC
MAE-B
S/61
C.1

**MAPEO DE LAS ESPECIALIZACIONES
RETINIANAS EN EL NUCLEO ISTMO
PARVOCELULAR DE LA PALOMA**
Columba livia



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

Carlos Andrés Salas López

Octubre, 2012

**Directores de Tesis: Gonzalo Marín Gamé
Jorge Mpodozis Marín**

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGISTER

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

CARLOS ANDRES SALAS LOPEZ

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Neurociencias, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 30-08-2011.

Director de Tesis:
Dr. Jorge Mpodozis

.....
[Handwritten signature]

Co-Director de Tesis
Dr. Gonzalo Marín

.....
Gonzalo M.



Comisión de Evaluación de la Tesis

Dra. Cecilia Vergara (Presidenta)

C. Vergara Ver.

Dr. Alejandro Roth

.....
[Handwritten signature]



Dedicado a mis padres



Quiero agradecer en primer lugar a la Universidad de Chile, a su personal académico, funcionarios y estudiantes, quienes me condujeron y acompañaron durante mi formación como científico y me entregaron una visión crítica de mi país.

Quisiera también agradecer en especial a todo el Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, a mis tutores Gonzalo Marín y Jorge Mpodozis, a Solano Henríquez, Juan Carlos Letelier, Elisa Sentis, Patricio Ahumada, Sebastián Tapia, Tomás Vega y Macarena Faunes por su guía, conversaciones, y por hacer posible este trabajo,

Y a mi familia por su apoyo incondicional.

INDICE DE MATERIAS



1. ABSTRACT	1
2. RESUMEN	2
3. INTRODUCCION	3
3.1. PERCEPCIÓN Y ATENCIÓN VISUAL.....	3
3.2. LA RETINA DE LA PALOMA Y LAS ESPECIALIZACIONES RETINALES.....	4
3.3. CIRCUITOS NEURONALES RELACIONADOS CON LA ATENCIÓN VISUAL ESPACIAL.....	7
3.4. RESPUESTAS VISUALES EN EL TECTUM ÓPTICO Y NÚCLEOS DEL ISTMO (NI)	11
3.4.1. <i>Núcleo istmo parvocelular (Ipc) y circuito de retroalimentación TeO-Ipc.....</i>	<i>14</i>
3.4.2. <i>Núcleo istmo magnoelular (Imc) y sus proyecciones</i>	<i>15</i>
3.5. OPERACIÓN DEL CIRCUITO TEO-NI Y LA APARICIÓN DE UN FOCO ATENCIONAL.....	17
3.6. COMPETENCIA DE ESTÍMULOS SIMULTÁNEOS Y ASIMETRÍA EN EL CAMPO VISUAL	20
3.7. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	21
4. MATERIALES Y METODOS	25
4.1. CIRUGÍA	25
4.2. INYECCIONES DE DEXTRÁN AMINA BIOTILINADO ACOPLADA A RODAMINA (RHOD-BDA) EN EL TECTUM ÓPTICO DE LA PALOMA.....	26
4.3. INYECCIÓN DE RHOD-BDA EN LA REPRESENTACIÓN DE LA FÓVEA DE LA RETINA EN TEO	27
4.4. DETERMINACIÓN FISIOLÓGICA DE LA POSICIÓN DE LOS CAMPOS VISUALES DE IPC ...	28
4.5. MÉTODOS HISTOLÓGICOS.....	29
4.5.1. <i>Identificación de los sitios de registro en Ipc.....</i>	<i>30</i>
4.5.2. <i>Identificación de la marca retrógrada en Ipc de las inyecciones de rhod-BDA en TeO.....</i>	<i>30</i>
4.5.3. <i>Identificación de la marca retrógrada en la retina de las inyecciones de rhod-BDA en TeO.....</i>	<i>31</i>
4.6. MODELACIÓN TRIDIMENSIONAL DE LOS NÚCLEOS ISTMO Y TEO	32
4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
5. RESULTADOS.....	34
5.1. INYECCIÓN DE TRAZADOR ANATÓMICO RHOD-BDA EN TEO: DETERMINACIÓN DE LA PROYECCIÓN IPC-TEO	34
5.2. REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO EN IPC: DETERMINACIÓN DE POSICIÓN Y TAMAÑO DE LOS CAMPOS RECEPTIVOS EN IPC.....	36
5.2.1. <i>Posición de los campos receptivos en Ipc.....</i>	<i>36</i>
5.2.2. <i>Tamaño de los campos receptivos en Ipc.....</i>	<i>38</i>
5.3. FACTOR DE MAGNIFICACIÓN EN LAS DISTINTAS REGIONES DEL CAMPO VISUAL DE LA PALOMA	38
5.3.1. <i>Factor de magnificación obtenido desde los resultados de inyecciones de trazadores anatómicos.....</i>	<i>41</i>
5.3.2. <i>Factor de magnificación obtenido desde los resultados de registros electrofisiológicos en Ipc.....</i>	<i>46</i>

6. DISCUSION.....	47
6.1. PROYECCIÓN IPC-TEO.....	48
6.2. PROYECCIÓN TEO-IPC.....	48
6.3. MAGNIFICACIÓN DE LAS DISTINTAS REGIONES RETINALES EN IPC.....	52
6.4. PARTICIPACIÓN DEL CIRCUITO DE RETROALIMENTACIÓN IPC-TEO EN LA FORMACIÓN DE UN FOCO ATENCIONAL.	54
7. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES FUTURAS.....	58
8. BIBLIOGRAFIA	62

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. FACTOR DE MAGNIFICACIÓN DE LA FÓVEA CENTRAL EN TEO E IPC	43
TABLA 2. PROMEDIO DEL FACTOR DE MAGNIFICACIÓN $FM_{IPC-RETINA}$ OBTENIDO EN CADA REGIÓN DE LA RETINA.....	45
TABLA 3. RESUMEN DE RESULTADOS OBTENIDOS CON LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA NO PARAMÉTRICA ROBUST RANK-ORDER TEST ENTRE LOS VALORES DE FACTOR DE MAGNIFICACIÓN CORRESPONDIENTES A DOS REGIONES DISTINTAS COMO SE MUESTRA EN LA TABLA.....	45

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. LA RETINA DE UNA PALOMA	5
FIGURA 2. VARIACIÓN REGIONAL DE LAS NEURONAS GANGLIONARES DE LA RETINA (RGC)	7
FIGURA 3. VARIACIÓN REGIONAL DE LA PROYECCIÓN DE CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN EL TECTUM ÓPTICO	9
FIGURA 4. LAS NEURONAS GANGLIONARES TECTALES TIPO I (TGC I) Y LA VIA TECTO-ROTUNDAL-PALIAL.....	10
FIGURA 5. REGISTRO DE LAS DOR TECTALES EN RESPUESTA A DISTINTOS ESTÍMULOS VISUALES.....	12
FIGURA 6. ESQUEMA DE LA PROYECCIÓN RECÍPROCA ENTRE LOS NÚCLEOS ISTMO (NI) Y EL TECTUM ÓPTICO (TeO).....	13
FIGURA 7. TERMINALES EN PINCEL DE LAS NEURONAS DE IPC Y NEURONAS NB EN TeO	16
FIGURA 8. REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO EN IPC DE LA COMPETENCIA DE ESTÍMULOS VISUALES SIMULTÁNEOS EN EL CAMPO VISUAL DE LA PALOMA	19
FIGURA 9. LA COMPETENCIA DE ESTÍMULOS VISUALES EN EL CAMPO VISUAL ES ASIMÉTRICA	21
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE LAS POBLACIONES DE NEURONAS MARCADAS RETRÓGRADAMENTE CON INYECCIONES DE RHOD-BDA EN EL TECTUM ÓPTICO DE <i>COLUMBA LIVIA</i>	35
FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN Y TAMAÑO DE LOS CAMPOS RECEPTIVOS DE NEURONAS EN EL NÚCLEO ISTMO PARVOCELULAR DE LA PALOMA.....	39
FIGURA 12. LESIÓN ELECTROLÍTICA EN DOS SITIOS DE REGISTRO EN IPC	40
FIGURA 13. REPRESENTACIÓN DE LA FÓVEA CENTRAL EN TeO Y IPC	42
FIGURA 14. MODELO TRIDIMENSIONAL DE LOS NÚCLEOS ISTMO Y TECTUM ÓPTICO DE LA PALOMA	51

LISTA DE ABREVIACIONES

AP	eje anterior-posterior
DOR	descargas oscilatorias tectales rápidas
DV	eje dorsal-ventral
FM	factor de magnificación
GABA	ácido gama amino butírico
HF	actividad de alta frecuencia producida por Imc
Imc	núcleo istmo magnocelular
Ipc	núcleo istmo parvocelular
ML	eje medial-lateral
NB	neurona tectal con axón tipo bastón
NI	núcleos istmo
RGC	neurona ganglionar de la retina
rhod-BDA	dextrán amina biotilnado acoplado a rodamina
SC	colículo superior
SLu	núcleo istmo semilunaris
TeO	tectum óptico
TGC	neurona ganglionar tectal

1. ABSTRACT

Previous studies have proposed that in vertebrates the tecto-isthmic network, which is constituted by a group of nuclei of the isthmus region of the brain reciprocally connected with the optic tectum (TeO), participates in generating a focus of attention directed to a discrete region of the visual field. In birds it has been shown that the nucleus isthmi pars parvocellularis (Ipc) facilitates processing of the visual stimuli through a topographically organised, feedback projection to the TeO. We proposed to study the reciprocal projections between the Ipc and the TeO, particularly at the representation of the high-resolution areas of the retina with the aim of quantifying the magnification of these areas in Ipc. To achieve this objective, we made injections of the retrograde tracer biotinilated dextran amine coupled to rhodamine in the TeO of pigeons (n=21) finding the position of traced neurons in the Ipc and the retina. In addition, we performed electrophysiological recordings of visually evoked potentials in Ipc (n=22) and determined both the position and size of their receptive fields. Finally, using these data we calculated the magnification factor for each of the retinal regions in Ipc comparing the distance between two points in Ipc with the distance between their respective loci, in both the retina and the visual field. Our results show that in the Ipc the retinal specialisations have a significantly higher magnification factor when compared to the periphery of the visual field, indicating that these regions have an enlarged representation in this nucleus. These results suggest that the circuit Ipc-TeO may enhance visual processing of stimuli throughout the visual field, especially within regions perceived at high spatial resolution, which may be particularly relevant during behaviours such as foraging and detection of predators.

2. RESUMEN

Estudios previos han postulado la participación de la red istmo-tectal en la generación de focos de atención visual espacial en diversas clases de vertebrados. Esta red neuronal está constituida por un grupo de núcleos de la región del istmo conectados recíprocamente con el tectum óptico (TeO), la principal estructura visual mesencefálica. En aves, la función atencional de este circuito estaría mediada por el núcleo istmo parvocelular (Ipc), el cual actuaría dinámicamente sobre las sinapsis retino-tectales facilitando el procesamiento visual en zonas acotadas del campo visual. En este trabajo nos propusimos estudiar las proyecciones recíprocas entre Ipc y TeO, atendiendo especialmente a aquellas zonas que representan las regiones de la retina con mayor resolución visual, como son la fovea y el área roja. Con este objetivo realizamos inyecciones del trazador retrógrado dextrán amina biotinilado acoplado a rodamina en TeO (n=21) y localizamos las poblaciones de neuronas marcadas en Ipc y la retina. Además realizamos registros electrofisiológicos de los potenciales evocados por estimulación visual en Ipc (n=22), determinando la posición y tamaño de los campos receptivos. Finalmente utilizando estos datos calculamos un factor de magnificación para cada una de las regiones de la retina en Ipc, comparando la distancia entre dos puntos en Ipc con sus respectivos loci en la retina y en el campo visual. Nuestros resultados muestran que las especializaciones retinales tienen un factor de magnificación mayor que áreas más periféricas de la retina, indicando que éstas tienen una mayor representación en este núcleo. Estos resultados sugieren que el circuito Ipc-TeO permite la selección de estímulos visuales en todo el campo visual, en especial en las regiones del campo visual percibidas con una mayor resolución, lo que sería relevante, por ejemplo, en conductas de forrajeo o en la detección de depredadores.

3. INTRODUCCION

El creciente interés en la comprensión de los mecanismos de control de la atención visual espacial ha evidenciado la necesidad de un conocimiento más profundo de la organización de las estructuras que subyacen a este proceso. En particular es interesante conocer la organización funcional de algunas estructuras claves en la atención visual espacial, como lo son la retina, el tectum óptico (TeO) y los núcleos istmo (NI). En estos últimos la actividad neuronal se ve modificada por estímulos visuales localizados en distintas partes del campo visual. De especial interés es dilucidar la representación anatómica de las regiones correspondientes a zonas con alta resolución espacial en la retina, como son la fovea y el área roja. De esta manera, esperamos que el entendimiento de las relaciones hodológicas de estos circuitos neuronales ayudará en la comprensión de la atención visual espacial. A continuación se expondrá un marco teórico que explica los antecedentes bibliográficos de este trabajo de investigación.

3.1. Percepción y atención visual

En humanos y otros primates de visión frontal, durante la exploración de una escena visual, los movimientos oculares sacádicos dirigen la fovea de la retina hacia los distintos hitos del campo visual. Dado que la fovea es el lugar donde se encuentra la mayor densidad de fotorreceptores de la retina, los estímulos presentados en esta

zona son percibidos con una mayor resolución espacial que los estímulos presentados en otras áreas más periféricas de la retina (Treue, 2001; Awh y col., 2006). Sin embargo, la orientación de la fovea hacia un estímulo mediante movimientos oculares no es la única manera de facilitar su percepción. Existen mecanismos neuronales centrales que permiten potenciar el procesamiento de la aferencia visual proveniente tanto de la fovea como de otras partes de la retina. A este proceso de aumento de la percepción de los estímulos respecto al entorno se le denomina atención visual espacial (Moore y col., 2003).

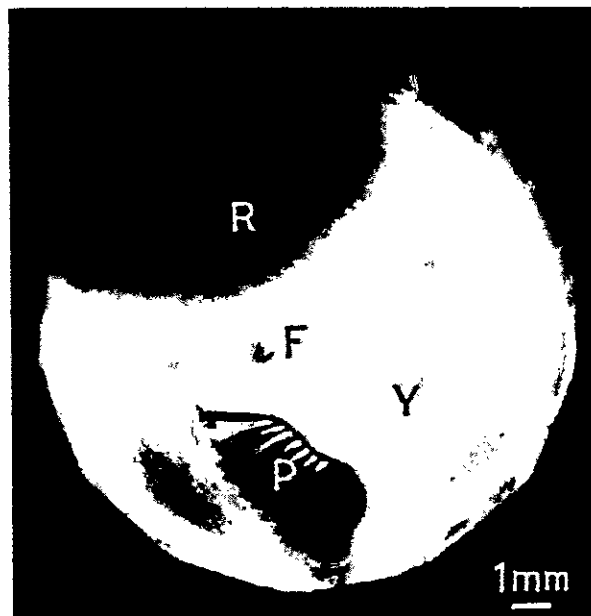
Este fenómeno puede ser especialmente importante en las aves, donde los movimientos oculares son de baja amplitud y muchas especies poseen ojos lateralizados y visión panorámica. Más aún, es común encontrar en la retina de las aves áreas anatómicas distintas, que estarían asociadas a distintas tareas visuales dentro del repertorio conductual del animal, como alimentación y conductas anti-depredación (Nye, 1973; Bloch y col., 1984; Nalbach y col., 1990; Martin y Katzir, 1999), las cuales podrían requerir cambios rápidos del foco atencional, o incluso podrían estar asociadas a mecanismos atencionales específicos.

3.2. La retina de la paloma y las especializaciones retinales

En particular, la retina de la paloma posee dos regiones bien diferenciadas, a saber, un área dorso-temporal o *área roja*, y un área central-ventral o *área amarilla* (ver **Figura 1**, **Figura 2**). Ambas áreas poseen una zona de mayor densidad de células ganglionares, el *area dorsalis*, ubicada en una posición dorso-posterior dentro

del área roja, y el *area centralis o fovealis* localizada en el campo amarillo cerca del eje óptico (Galifret, 1968; Budnik y col., 1984; Karten y col., 1997).

Figura 1. La retina de una paloma



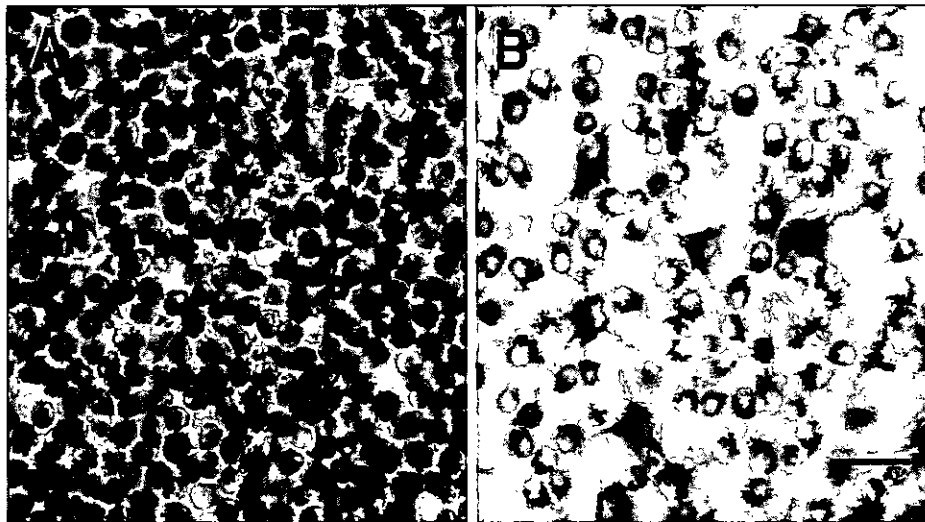
En la figura se muestra un corte transversal del ojo derecho de una paloma. Además del pecten (P), se muestran las diferentes especializaciones macroscópicas de la retina de la paloma: el área roja o área dorsalis (R), el área amarilla (Y) y la *fovea centralis* (F). Obtenido de Galifret (1968).

Se ha mostrado que la tasa de convergencia de fotorreceptores en células ganglionares, factor que es determinante en la capacidad de resolución visual, es similar en la fovea central y en el área dorsalis, siendo ésta aproximadamente 3 veces menor que en áreas más periféricas (Querubin y col., 2009). Este resultado indica la alta resolución espacial de ambas regiones retinales. Sin embargo, cada una de estas regiones se asocia a distintas tareas visuales. El campo visual del *area dorsalis* es

inferior-frontal, lo que corresponde a la región visual de superposición binocular. En cuanto a sus propiedades ópticas, se ha descrito que esta región sería miope, es decir, el enfoque de la imagen se alcanza a distancias pequeñas desde el estímulo. Algunas conductas que la paloma realizaría utilizando la visión frontal son la alimentación y el aterrizaje desde un vuelo (Bloch y Martinoya, 1982; Martinoya y col., 1984; Maldonado y col., 1988). En tanto, el *area centralis o fovealis* tiene un campo visual centro-lateral, estrictamente monocular. Las características ópticas de esta zona ocular serían del tipo hipermetropes, es decir, el enfoque de la imagen se alcanza a estímulos visuales más alejados. Una tarea que se realizaría usando la visión lateral es la vigilancia y alerta a depredadores (Bloch y Martinoya, 1982; Martinoya y col., 1984; Maldonado y col., 1988). Estos resultados sugieren que el campo visual de la paloma se encuentra regionalizado, con especializaciones visuales distribuidas en los ejes antero-posterior y dorso-ventral del campo visual.

En este contexto, la atención visual espacial podría actuar como un mecanismo único de selección de estímulos visuales que se localizaran tanto en el área roja como en la fovea central, o también en áreas más periféricas de la retina, potenciando la actividad visual proveniente de la zona atendida, y suprimiéndola en las restantes (Shipp, 2004). Alternativamente, podrían haber mecanismos atencionales específicos para las conductas asociadas a cada una de las especializaciones retinianas.

Figura 2. Variación regional de las neuronas ganglionares de la retina (RGC)



En las fotografías se muestran las células ganglionares de la retina (RGC) marcadas retrógradamente luego de una inyección de la subunidad B de la colerotoxina (CTb) en el tectum óptico. (A) fotografía de las RGCs marcadas en el área roja luego de una inyección en TeO ventral. Note el tamaño pequeño, la forma homogénea y la gran densidad celular en esta área de la retina (B) Compárelo con la menor densidad y la heterogeneidad encontrada en RGCs marcadas en el área amarilla luego de la inyección de TeO dorsal. Barra = 15 μ m. Obtenido de Karten y col. (1997).

3.3. Circuitos neuronales relacionados con la atención visual espacial

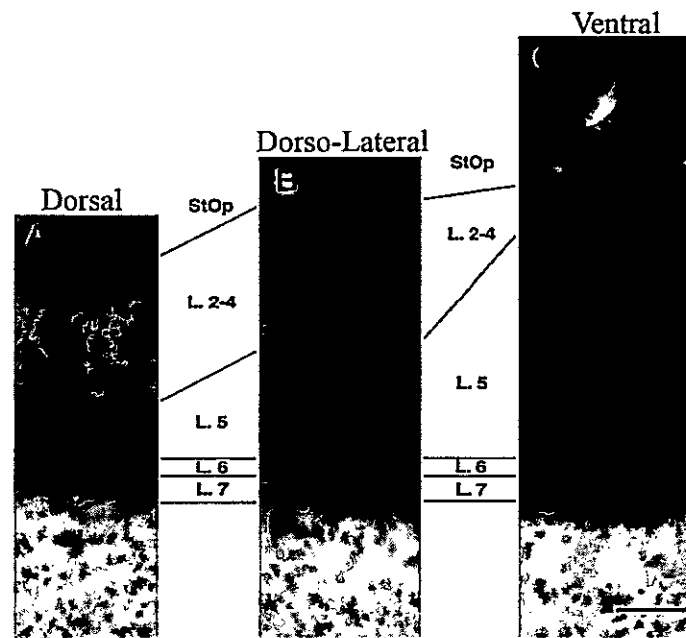
Aunque correlatos fisiológicos de un foco atencional han sido encontrados en distintas áreas visuales del cerebro de vertebrados (Bender y Youakim, 2001; Sato y col., 2003; Armstrong y col., 2006; Winkowski y Knudsen, 2008; Phillips y Segraves, 2010), varios estudios en mamíferos, principalmente primates, sugieren que el colículo superior (SC) y la vía colículo-pulvinar-palial son estructuras claves en la selección de estímulos visuales y en el cambio de posición espacial del foco atencional (Posner y Petersen, 1990; Sapir y col., 1999; Armstrong y col., 2006). En

gatos, primates y lechuzas se ha mostrado que la microestimulación del SC gatilla movimientos de orientación de los ojos y/o la cabeza (du Lac y Knudsen, 1990; Masino y Knudsen, 1993; Freedman y col., 1996; Bergeron y col., 2003). De manera análoga, Muller y col. mostraron que la estimulación de un sitio en SC dirige la atención hacia el campo receptivo del locus estimulado (Muller y col., 2005). Este y otros estudios sugieren que los movimientos atencionales estarían relacionados con las áreas premotoras de SC y compartirían en alguna medida los circuitos neuronales que controlan los movimientos oculares (Kustov y Robinson, 1996; Ignashchenkova y col., 2004; Hafed y Krauzlis, 2010). Sin embargo, cuáles son estos mecanismos compartidos y cómo el colículo superior controla los movimientos del foco atencional está lejos de ser comprendido.

En aves la estructura homóloga al colículo superior es el tectum óptico (TeO). Este es la principal estructura visual de vertebrados no mamíferos, y en aves recibe aproximadamente el 90% de las fibras provenientes de la retina contra-lateral (Mpodosis y col., 1995; Karten y col., 1997). Desde el punto de vista anatómico, TeO se distingue como una estructura laminar, compuesta de 15 capas plexiformes y celulares. Los axones provenientes de la retina llegan a distintas capas superficiales de TeO, llamadas capas retinorecipientes (capas 2-3, 4, 5 y 7) y conforman su principal aferencia (Karten y col., 1997; Tombol y col., 2003). En TeO las aferencias retinianas conservan un alto grado de retinotopía por lo que se dice que en TeO se encuentra una representación punto a punto del espacio visual contralateral; es decir, cada locus en el tectum tiene su campo receptivo al lado del campo receptivo de su locus vecino (Letelier y col., 2004).

Cabe destacar que la capa retinorecipiente 5 presenta una variación en su morfología a través del eje dorso-ventral, que representa a su vez el eje dorso-ventral del campo visual. El grosor de la capa 5 es claramente mayor en la parte ventral de TeO comparado con la parte dorsal (Karten y col., 1997) (ver **Figura 3**). Esta variación reflejaría la proyección diferencial de células ganglionares de la retina, provenientes del área roja y amarilla, en el área ventral y dorsal de TeO, respectivamente (ver **Figura 2**). Esta diferencia de aferencias visuales podría tener, a su vez, profundas consecuencias sobre la organización general del sistema visual en aves, en particular en sus mecanismos de direccionamiento de la atención (ver discusión más adelante).

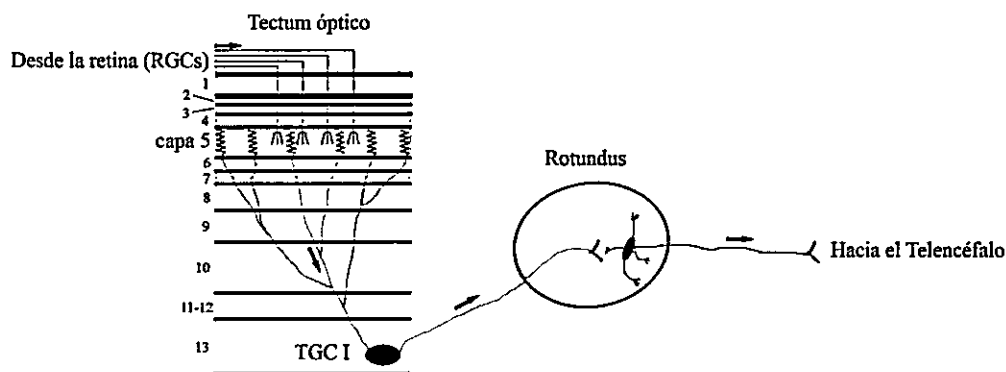
Figura 3. Variación regional de la proyección de células ganglionares de la retina en el tectum óptico



Los terminales de las neuronas RGC, marcados mediante una inyección intraocular de la subunidad B de la colerotoxina (CTb), se muestran en tres niveles del eje dorso-ventral. (A), dorsal; (B), dorsolateral; (C), ventral. Note que mientras la capa 5 disminuye hacia dorsal (L. 5), las capas 2-4 presentan la variación opuesta (L. 2-4). Note también la gran extensión de la capa 5 en TeO ventral. StOp, stratum opticum. Barra = 50 μ m. Obtenido de Karten y col. (1997).

El tectum óptico da origen a la vía sensorial ascendente tecto-rotundo-palial, a partir de las fibras eferentes de las células tectales ganglionares (TGC), cuyas cuerpos neuronales se encuentran en la capa 13 de TeO. El trabajo realizado por Karten y col. (1997) muestra la presencia de al menos dos tipos neuronales de TGCs. Estos autores describen las TGC tipo I, las cuales serían el único tipo de ganglionar tectal que recibiría aferencia monosináptica retinal con las fibras retinianas que alcanzan la capa 5 de TeO. En este lugar las fibras retinianas establecerían una sinapsis con los terminales dendríticos de las TGC I, los cuales se han denominado como terminales en botella (“bottlebrush”) debido a su forma. Las TGC I poseen un amplio árbol dendrítico en la capa 5, abarcando gran parte del área del tectum y enviarían sus axones a las divisiones central y dorsal anterior del núcleo rotundus thalami (Karten y col., 1997; Marin y col., 2003)(ver Figura 4).

Figura 4. Las neuronas ganglionares tectales tipo I (TGC I) y la vía tecto-rotundal-palial



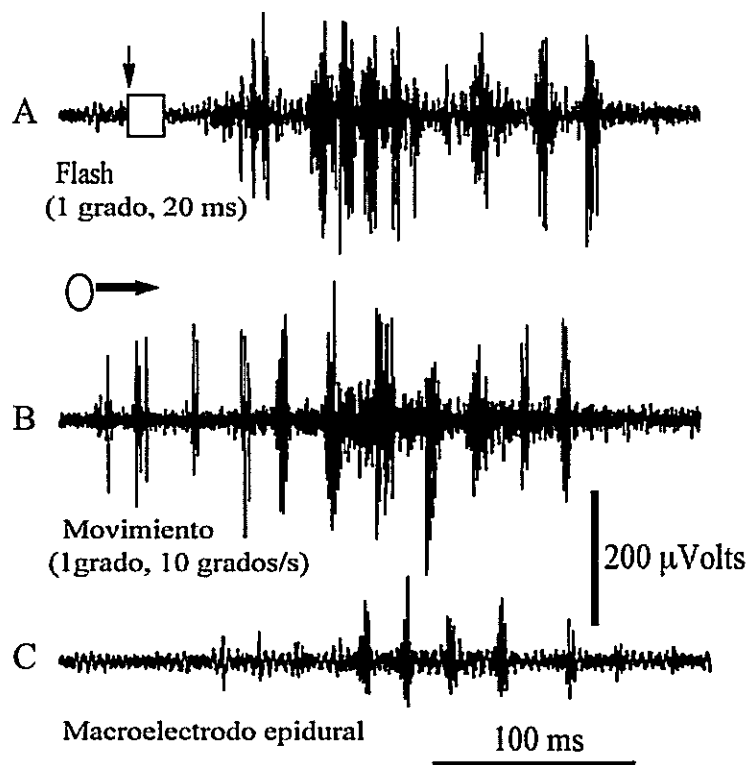
La figura muestra un esquema de la vía sensorial ascendente tecto-rotundo-palial. Los axones de las neuronas ganglionares de la retina (RGCs) que ramifican en la capa 5 del TeO realizan sinapsis con los terminales dendríticos en botella de las TGC I. Estas neuronas proyectan sus axones hacia el núcleo rotundus, donde ocurre el relevo hacia el telencéfalo. Modificado de Marin y col. (2007).

3.4. Respuestas visuales en el tectum óptico y núcleos del istmo (NI)

En cuanto a la fisiología del tectum óptico, varios estudios han reportado que la respuesta a la estimulación visual más común registrada extracelularmente en las distintas capas de TeO, corresponde a descargas de potenciales de acción en forma de descargas oscilatorias tectales rápidas (DOR), cuyos componentes individuales son muy difíciles de aislar (Knudsen, 1982; Neuenschwander y Varela, 1993; Neuenschwander y col., 1996; Marin y col., 2005). Resultados de nuestro laboratorio demostraron que las DOR tectales representan descargas de los terminales axónicos de las neuronas del núcleo Istmo parvocelular (Ipc), un núcleo tecto-recipiente ubicado en la región istmal, y por lo tanto son señales re-entrantes en el tectum (Marin y col., 2005) (ver **Figura 5**). Las DOR son respuestas a estímulos visuales transitorios o en movimiento y consisten en secuencias de potenciales de acción con una frecuencia intra-DOR de 500-600 Hz y con una frecuencia inter-DOR de 15-100 Hz. Dado que las neuronas de Ipc serían colinérgicas, estos resultados sugieren que las DOR tectales corresponderían a eventos de liberación de acetilcolina que podrían modular el flujo de señales visuales a lo largo de una columna tectal. Se ha propuesto que la liberación de acetilcolina a través de una columna en TeO podría entenderse, figurativamente, como un foco atencional, al producir un efecto unitario y sincronizado a lo largo de dicha columna, en un lugar especialmente restringido en el mapa tectal (Marin y col., 2005; Marin y col., 2007; Asadollahi y col., 2010). Esta hipótesis es mejor entendida al considerar el conjunto de núcleos satélites del tectum, ubicados en el tegmento dorsolateral del mesencéfalo denominados núcleos del istmo (NI), del cual Ipc forma parte (ver **Figura 6**). NI está presente en todos los vertebrados y en aves lo conforman: el núcleo istmo pars parvocelularis (Ipc), el

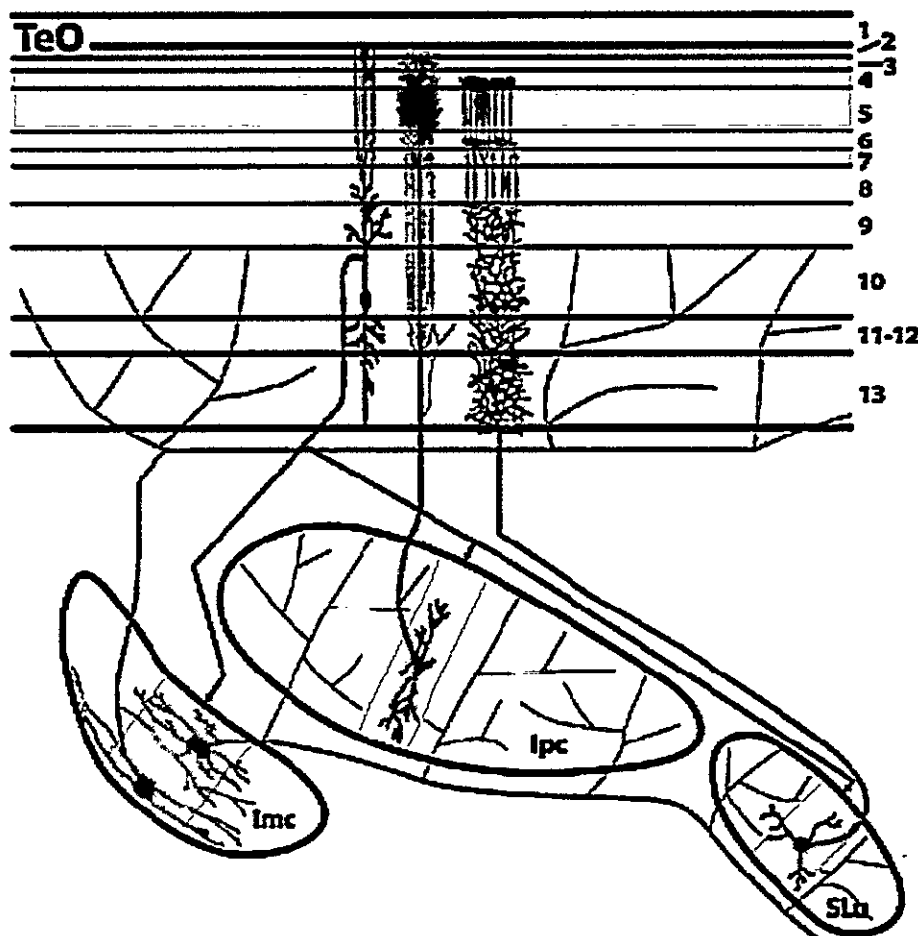
núcleo istmo pars magnocelularis (Imc) y el núcleo istmo pars semilunaris (SLu). En todos los vertebrados, los NI aparecen como núcleos celulares bien diferenciados y todos sus componentes se conectan recíprocamente con TeO (Gruberg y col., 2006).

Figura 5. Registro de las DOR tectales en respuesta a distintos estímulos visuales



En la figura se observan las descargas tipo DOR en TeO registrados con un electrodo de tungsteno frente a la aparición de distintos estímulos en el campo visual. (A) El registro muestra una descarga tipo DOR en respuesta a la presentación en el campo receptivo de un estímulo visual del tamaño de 1 grado durante 20 ms. (B) El registro muestra la respuesta en TeO cuando un estímulo en movimiento atraviesa el campo receptivo del sitio de registro. (C): El registro muestra la respuesta en TeO a un estímulo idéntico que en (B), pero registrado sobre la duramadre con un macroelectrodo.

Figura 6. Esquema de la proyección recíproca entre los núcleos istmo (NI) y el Tectum óptico (TeO)



La figura muestra un esquema de una vista de un corte transversal a través del mesencéfalo de la paloma. En cada una de estas estructuras se observa los tipos de neuronas presentes y las proyecciones de estas sobre las distintas capas de TeO y/o NI. TeO, tectum óptico; Imc, núcleo istmo magnocelularis; Ipc, núcleo istmo parvocelularis; SLu, núcleo semilunaris. El código de color de las neuronas indica el neurotransmisor que se libera en el terminal del axón: azul, glutamato; rojo, GABA; verde, acetilcolina. Modificado de Wang y col. (2004).



3.4.1. Núcleo istmo parvocelular (Ipc) y circuito de retroalimentación TeO-Ipc

En las aves, las neuronas de Ipc proyectan sus axones exclusivamente a TeO. Esta proyección es topográfica y recíprocamente homotópica, de tal manera que cada neurona de Ipc que proyecta su axón a TeO recibe también una proyección tectal originada en la misma región que ella inerva (Hunt y col., 1977; Gunturkun y Remy, 1990; Gruberg y col., 2006; Wang y col., 2006). Dada la completa representación del campo visual de la paloma en TeO, es esperable que en las aferencias de Ipc originadas en TeO se encuentre también una representación completa del campo visual. Sin embargo, aún se desconoce si todas las especializaciones retinales que proyectan al TeO se encuentran también representadas en Ipc y qué fracción de este núcleo está dedicada a cada una de ellas.

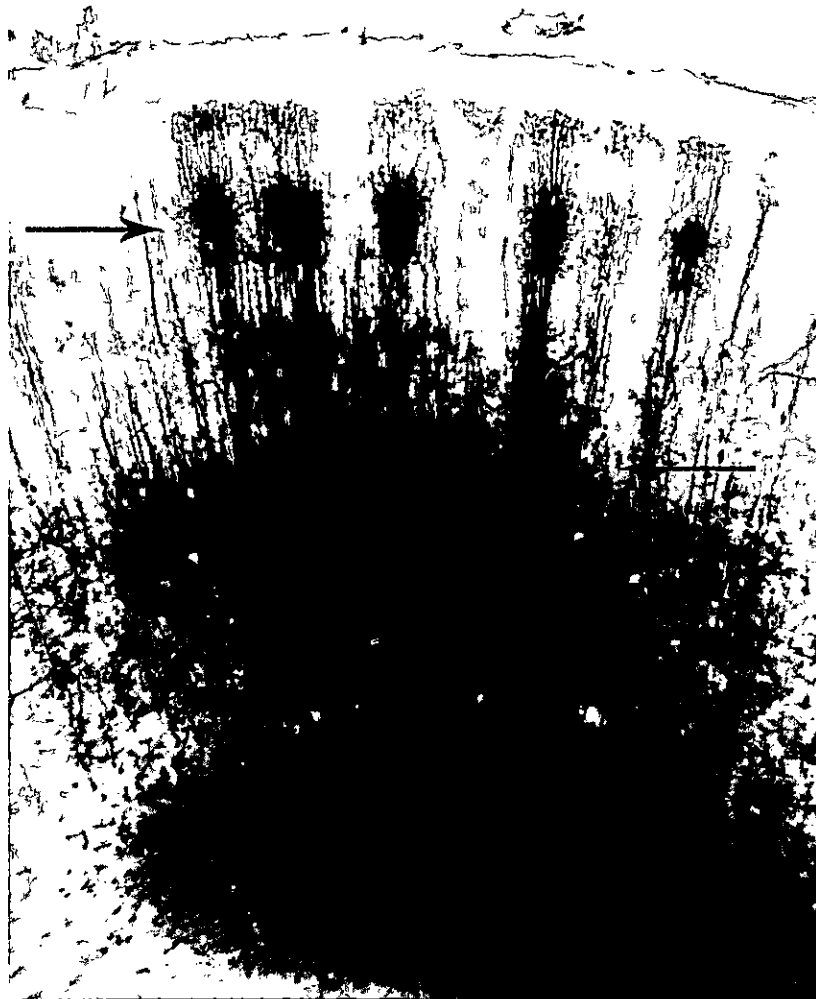
Los axones de las células de Ipc dan origen a un terminal con un morfología tipo pincel, que se ramifica de manera columnar a través de todas las capas tectales (ver esquema en **Figura 6**, ver **Figura 7**) (Gunturkun y Remy, 1990; Marin y col., 2005; Wang y col., 2006). Entre Ipc y su aferencia tectal se establecería un circuito de retroalimentación positiva que comenzaría con la activación de un locus de TeO por la aferencia visual proveniente de la retina y la siguiente activación del locus homotópico en Ipc a través de eferencias tectales a este núcleo, que a su vez mediante la actividad DOR descargaría acetilcolina en TeO, la que actuaría excitando este locus de TeO. La aferencia tectal sobre Ipc, al igual que sobre Imc y SLu, proviene de neuronas bipolares dispuestas de manera radial en TeO. El cuerpo neuronal de estas células se encuentra en la capa 10 de TeO y sus árboles dendríticos se extienden en una columna entre las capas 2 y 13 de TeO (Wang y col., 2006), desconociéndose en qué capa estas células tendrían contacto sináptico con los

terminales retinianos. Estas neuronas se caracterizan por tener un axón tipo bastón, el cual sale del tronco dendrítico principal e invierte su recorrido hasta alcanzar el NI. En adelante nos referiremos a estas neuronas como neuronas tipo bastón (NB) (Ver Figuras 6 y 7).

3.4.2. Núcleo istmo magnocelular (Imc) y sus proyecciones

Respecto del núcleo Imc, se ha mostrado que todas sus células son inmunoreactivas a GAD, la enzima que sintetiza GABA, y por lo tanto se asume que son GABAérgicas (Veenman y col., 1994; Tombol y Nemeth, 1998). Wang y col. describen en este núcleo dos tipos de eferencias: una eferencia tectal que se extiende de manera difusa en las capas más internas de TeO y otra que se extiende también de manera difusa sobre los núcleos Ipc y SLu, donde cada axón abarca la mayor parte del volumen de estos núcleos (Wang y col., 2004). La proyección de Imc sobre Ipc y SLu también es difusa y abarca la mayor parte del volumen de estos núcleos. Las proyecciones de Imc se reconocen como heterotópicas pues éstas, al ser difusas, no mantienen la retinotopía tectal. Sin embargo, Wang y col. observaron en la proyección de Imc a TeO que si bien ésta se extiende sobre una amplia región de TeO, esta proyección no incluiría el locus donde se origina su aferencia tectal (Wang y col., 2004).

Figura 7. Terminales en pincel de las neuronas de Ipc y neuronas NB en TeO



Los axones en pincel en TeO marcados luego de una inyección del trazador BDA en Ipc, realizada en el laboratorio. Nótese las especializaciones de estos axones en la capa 5 de TeO, marcadas con una flecha roja. Note también la marca en cuerpo celular de neuronas NB, flecha azul, ubicadas en la capa 10. Procedimiento descrito en Marín y col. (2003). Barra = 200 μ m

3.5. Operación del circuito TeO-NI y la aparición de un foco atencional

De la disposición anatómica recién descrita es posible deducir que la principal acción de los terminales en pincel ocurre en la capa 5 en TeO, donde la liberación de acetilcolina podría tener un efecto excitador sobre la sinapsis formada, directa o indirectamente, por los terminales retinianos y los terminales dendríticos de las TGC tipo I. En varios grupos animales se ha sugerido que la modulación colinérgica mediada por el núcleo istmo en el tectum óptico actuaría sobre receptores nicotínicos ubicados en los terminales pre-sinápticos aumentando la liberación de glutamato en la sinapsis retino-tectal (en anfibios (Edwards y Cline, 1999; Dudkin y Gruberg, 2003); en mamíferos (Binns y Salt, 2000); y en peces (King y Schmidt, 1991)).

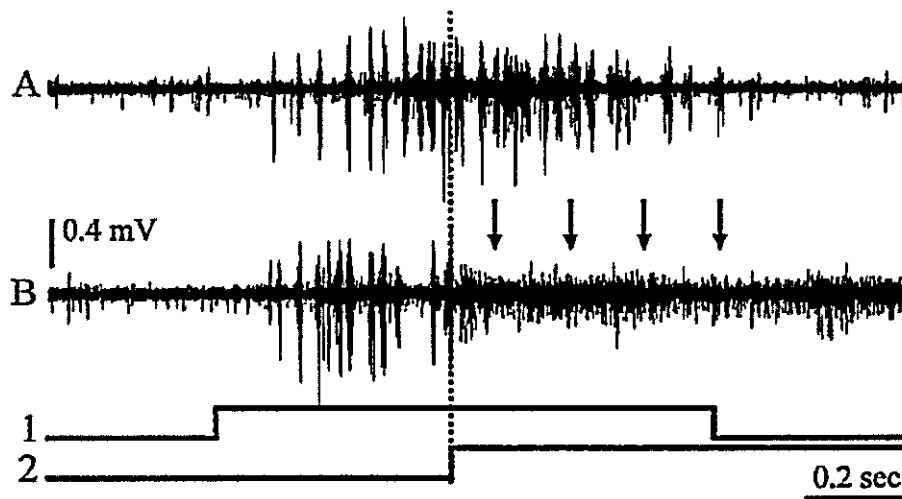
Estos resultados concuerdan con la idea de que la liberación de acetilcolina por parte de axones activos de NI en TeO facilita el procesamiento visual en lugares espacialmente restringidos de TeO, de una manera que podría ser análoga a la aparición de un foco atencional. Es decir, la aparición de un estímulo en el campo visual, llevaría por una parte a la activación del feedback colinérgico en el sitio correspondiente del mapa visual tectal y por otra parte a la inhibición simultánea del resto de Ipc y TeO mediante la activación de estas proyecciones GABAérgicas difusas de Imc.

De la misma manera, si aparece repentinamente un nuevo estímulo en el campo visual del animal, se debería desplazar el foco de la retroalimentación colinérgica hacia esa nueva posición, debido a la activación de un nuevo locus en Ipc y la consiguiente inhibición del locus anterior, generándose un único foco de

retroalimentación colinérgica que se desplaza a través de la superficie de TeO y que podría constituir así un mecanismo análogo al de un foco de atención.

Experimentos realizados en el laboratorio mostraron la validez de este modelo en el sistema istmo-tectal de la paloma. Estos experimentos fueron denominados como competencia de estímulos visuales y consistieron en la presentación simultánea de dos estímulos visuales separados por varios grados dentro de campo visual de la paloma. El experimento comienza con la presentación de un estímulo visual que se mueve linealmente dentro del campo receptivo de un sitio de registro en Ipc, que denominaremos como sitio de prueba. Cuando el estímulo visual se encontraba en la mitad del recorrido dentro del campo receptivo del sitio de prueba, un segundo estímulo visual, denominado como estímulo distractor, aparece en otro sector del campo visual. Encontramos que la respuesta tipo DOR al estímulo de prueba en Ipc era fuertemente inhibida cuando aparecía el estímulo distractor (**Figura 8**). Esta inhibición se produjo con distractores que se presentaban a una distancia de hasta 100 grados de separación del campo receptivo del sitio de prueba. En experimentos de registro simultáneo de dos loci separados de Ipc encontramos que concurrentemente con la inhibición de la respuesta DOR en el locus de prueba aparecía una potente actividad DOR en el registro del locus distractor. Aunque la latencia de la inhibición respecto al inicio de la respuesta en el locus distractor es variable (de 30 a 100 ms), la inhibición de la respuesta DOR en el sitio de prueba coincide con el inicio de la descarga de las DOR en el sitio distractor.

Figura 8. Registro electrofisiológico en Ipc de la competencia de estímulos visuales simultáneos en el campo visual de la Paloma



El trazo superior (A) muestra el registro extracelular de la actividad tipo DOR provocada por el movimiento de un estímulo visual circular de 2 grados de tamaño dentro del campo receptivo de un sitio de registro en Ipc (sitio de prueba). La estimulación tiene una duración del 1 segundo, que se muestra con la línea (1). El trazo inferior (B) muestra el efecto de la aparición de un estímulo distractor en el campo visual. Cuando el estímulo en el sitio de prueba se encuentra en la mitad de su recorrido, un segundo estímulo idéntico al anterior (estímulo distractor) aparece en una posición superior en el campo visual, localizado a 100 grados del campo receptivo del sitio de prueba. El inicio y término de la segunda estimulación se muestra en la línea (2). Este segundo estímulo, estímulo distractor, suprimió la respuesta tipo DOR en el registro del sitio de prueba en Ipc. Observe que la actividad DOR fue reemplazada por una descarga de actividad de alta frecuencia (HF) de baja amplitud, que se señala con las flechas en el registro en (B). Modificado de Marin y col. (2007).

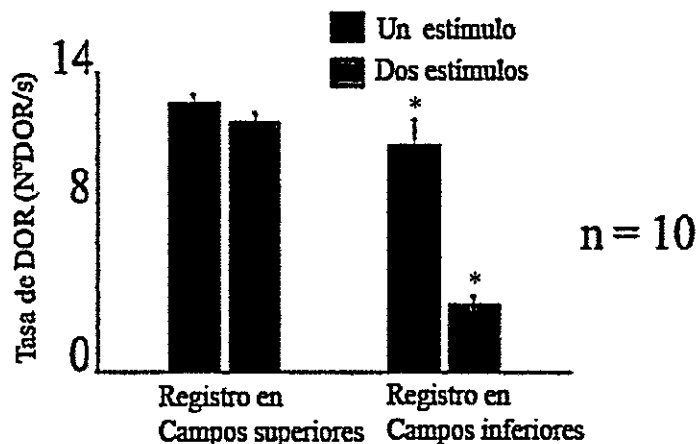
La supresión de la actividad tipo DOR de un locus en Ipc por un segundo estímulo visual es acompañada por la aparición de una forma característica de actividad de alta frecuencia (HF) registrada en el locus suprimido, que permanece mientras dura la estimulación con el distractor. Esta consiste en unas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

demostrado que esta actividad se produce por la descarga simultánea de los terminales GABAérgicos de Imc en Ipc, y por lo tanto revelaría la acción inhibitoria provocada por un estímulo periférico sobre la respuesta DOR central (Marin y col., 2005; Marin y col., 2007). Esta actividad HF también se produce cuando el estímulo se mueve fuera de los bordes del campo receptivo de Ipc.

3.6. Competencia de estímulos simultáneos y asimetría en el campo visual

Uno de los aspectos más interesantes encontrados en los experimentos de competencia de estímulos fue que la inhibición de la actividad DOR en un sitio de Ipc por la aparición de un estímulo visual en un segundo sitio es asimétrica (ver **Figura 9**). La presentación de un estímulo distractor en campos receptivos ubicados en zonas dorsales y posteriores, es decir ubicado en la periferia del campo visual, siempre inhibió significativamente la respuesta DOR en sitios de prueba con campos receptivos ventrales y anteriores, donde se encuentran los campos receptivos correspondientes a las regiones de alta resolución espacial de la retina. En cambio, la estimulación de campos receptivos anteriores-inferiores produjo menos inhibición de las respuestas DOR de campos dorsales y posteriores, a menos que los primeros se encontrasen en una posición menos inferior, alrededor del meridiano horizontal del campo visual.

Figura 9. La competencia de estímulos visuales en el campo visual es asimétrica



La inhibición de la actividad DOR en Ipc es asimétrica. La figura muestra un resumen de 10 repeticiones de un experimento de competencia de estímulos en 6 palomas, con estímulos distractores separados entre 45 a 100 grados del sitio de prueba. Los histogramas presentan la tasa de actividad tipo DOR en sitios de prueba ubicados en campos superiores y en campos inferiores. (*) las diferencias son significativas (Test pareado de T, $p < 0,005$). Modificado de Marin y col. (2007).

3.7. Hipótesis y objetivos de este trabajo de Investigación

En las secciones anteriores hemos descrito la operación del circuito istmo-tectal, proponiendo que su funcionamiento podría dar cuenta de la generación de focos de atención visual en distintas regiones del espacio. Además mostramos el resultado de la operación de este circuito durante la instancia de competencia de estímulos visuales, la cual nos parece relevante pues estaría dando cuenta de una asimetría en el funcionamiento del circuito istmo-tectal. A continuación, presentaremos las hipótesis de trabajo y los objetivos que nos proponemos para entender las bases anatómicas de este circuito y las posibles causas de esta asimetría.

Basándose en los resultados de los experimentos de competencia de estímulos simultáneos mencionados anteriormente es posible inferir que el mecanismo de atención visual que operaría en el circuito istmo-tectal privilegia la formación de focos de atención visual ubicados en las regiones periféricas del campo visual. De esta manera, la operación de este circuito favorecería la detección de estímulos que podrían resultar amenazantes para la paloma, como por ejemplo la aparición en el campo visual de un depredador. No obstante, además de la alerta a depredadores, otras conductas también requieren de una selección de estímulos visuales, como por ejemplo el forrajeo, el cual en el caso de las palomas se realiza en regiones inferiores y frontales del campo visual. Esto sugiere que las proyecciones de Ipc, cuya actividad en TeO podría entenderse como facilitadora de la percepción visual en un punto del campo visual, debieran extenderse en todas las regiones de TeO. Sin embargo, desconocemos la magnificación de estas proyecciones en cada una de estas regiones. Dada la regionalización de las distintas conductas en el campo visual de la paloma, consideramos que es importante conocer si la proyección Ipc-TeO se extiende en todo el campo visual y también cuan magnificada se encuentra esta proyección en la representación tectal de las distintas regiones del campo visual.

Considerando lo anterior, nos hemos propuesto enfocar nuestro estudio en el detalle de la proyección recíproca entre Ipc y TeO. Al respecto, planteamos las siguientes hipótesis de trabajo:

1. En las proyecciones Ipc-TeO y TeO-Ipc se encuentran representadas todas las regiones del campo visual de la paloma, facilitando la percepción de estímulos relevantes en las distintas regiones del campo visual.

2. Las proyecciones Ipc-TeO y TeO-Ipc reflejan la asimetría de las proyecciones de la retina en TeO, alcanzando una mayor densidad en TeO medio-ventral donde se encuentran las proyecciones retinianas del área roja y la fóvea central.

De acuerdo a las hipótesis listadas, nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Como primer objetivo, nos proponemos realizar inyecciones del marcador anatómico retrógrado rhod-BDA en distintas zonas de TeO. De esta manera podremos verificar si las proyecciones de Ipc se encuentran distribuidas en todo el TeO. En particular, resulta revelante corroborar la proyección de axones de Ipc hacia la representación en TeO de las especializaciones retinales, la fóvea y el área roja.
2. Estudiaremos la proyección TeO-Ipc mediante el uso del registro electrofisiológico de la actividad de las neuronas de Ipc. Determinaremos la posición y el tamaño de los campos receptivos de cada sitio de registro.
3. Realizaremos el cálculo de un factor de magnificación de las proyecciones Ipc-TeO y TeO-Ipc para cada una de las regiones del campo visual, utilizando los resultados de la inyección de trazadores y del registro electrofisiológico.

Desarrollando estos experimentos podremos examinar también si existe una asimetría anatómica en el sistema istmo-tectal de la paloma que permita explicar la marcada asimetría fisiológica descrita en este sistema durante la competencia de

estímulos. Esta asimetría podría estar relacionada con las especializaciones de la retina de la paloma y el particular modo de vida de estos animales, en donde se alternarían focos de atención a estímulos distribuidos en el suelo y a amenazas de predadores provenientes de la periferia del campo visual.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Cirugía

Los experimentos se realizaron en palomas (*Columba livia*) adultas de cualquier sexo obtenidas en un criadero local y mantenidas en un vivero. Las palomas se anestesiaron intramuscularmente con una mezcla de ketamina (75mg/Kg) y xilazina (5mg/Kg). Posteriormente, las aves se posicionaron en un eje estereotáxico estándar que no interfiere con el campo visual del animal (Karten y Hodos, 1967). Durante el experimento, las aves se mantuvieron en un rango de temperatura entre 38 - 42 °C con una manta calefactora. Además, durante la cirugía el animal se mantuvo anestesiado con la aplicación intramuscular de un 30% de la dosis inicial de anestesia cada dos horas a través de una cánula intramuscular. El acceso al cerebro se realizó de acuerdo al procedimiento dado en Letelier y col. (Letelier y col., 2004), que descubre una franja lateral-ventral del tectum óptico contralateral al ojo estimulado. El núcleo Ipc se localizó utilizando el mapa estereotáxico de la paloma (Karten y Hodos, 1967). Los movimientos oculares fueron prevenidos fijando el ojo de la paloma al cráneo, utilizando para esto un pegamento tipo loctite. Un alambre de plata se implantó en el cráneo, que fue utilizado como referencia de tierra para el registro.

4.2. Inyecciones de dextrán amina biotilnado acoplada a rodamina (rhod-BDA) en el tectum óptico de la paloma

Se ocuparon 11 palomas (*Columba livia*) en este experimento. Las palomas fueron sometidas a una cirugía tal como se describe en la sección anterior. Se realizaron inyecciones en TeO dorsal, ventral, anterior, posterior y lateral. Los sitios de inyección fueron ubicados a una profundidad de 500 μ m desde la superficie de TeO en la capa 5 tectal, asegurando que la inyección ocurriese dentro del área de mayor densidad de terminaciones de los axones tipo pincel de Ipc en TeO y donde también existe una importante ramificación de los terminales de las células ganglionares de la retina. Para realizar las inyecciones de rhod-BDA se usaron pipetas simples de vidrio, las cuales contenían un alambre de tungsteno en una solución de trazador rhod-BDA disuelto en una solución salina de NaCl 0.75% que permitió mantener un registro de la actividad multiunitaria en TeO. Las inyecciones se realizaron utilizando un picospritzer, en una serie de 15 pulsos de aire, con intervalos de 20 segundos entre cada inyección. También se realizaron inyecciones iontoforéticas, con pulsos positivos de 5 segundos de duración y 5V de amplitud por 1 minuto. En ambos casos, luego de cada serie de inyecciones, la pipeta se mantuvo en el sitio de inyección por 15 minutos para evitar la difusión del trazador desde el sitio de registro a través del canal formado por la pipeta durante la penetración. Posterior a las inyecciones, se permitió una sobrevivencia de 8 a 9 días para el transporte del trazador en las células (ver métodos histológicos).

4.3. Inyección de rhod-BDA en la representación de la fovea de la retina en TeO

Se diseñó un método que permitió identificar de manera precisa la posición de la representación de la fovea central en el TeO de la paloma. Primero, se determinó la posición en el campo visual del campo receptivo del sitio de TeO que recibe la aferencia desde la fovea central. Para esto se utilizó una variación de la técnica denominada oftalmoscopia inversa que se encuentra descrita en el trabajo de Nalbach y col. (Nalbach y col., 1990). Brevemente, esta técnica utiliza un oftalmoscopio, que es un aparato que consta de un sistema de epiluminiscencia acoplado a un sistema óptico. Mediante una oftalmoscopia, un observador puede examinar a través de la mirilla del oftalmoscopio el fondo del ojo, el cual es iluminado a través de la pupila por el sistema de epiluminiscencia. El oftalmoscopio puede ser orientado en distintos ángulos para observar las distintas estructuras de la retina. Para una mayor precisión, este oftalmoscopio se fija a un micromanipulador. Una vez orientado y fijado hacia una estructura en particular de la retina, se ilumina con otro dispositivo emisor de luz, en este caso un puntero láser, a través de la mirilla del oftalmoscopio desde el lado opuesto al de observación, identificando así la posición de la proyección aquel hito en el espacio. Dado que la fovea no puede ser observada directamente con una inspección oftalmoscópica, se definieron dos hitos de referencia para identificar su proyección en el espacio: la proyección del eje óptico y la del extremo superior del pecten de la retina. El primer hito a identificar fue la proyección en el campo visual del eje óptico. Este fue identificado centrando el reflejo de la luz emitida por el oftalmoscopio en la córnea (Nalbach y col., 1990). Luego, por oftalmoscopia inversa se identificó la posición de la proyección del eje óptico en el espacio, registrando la posición del haz de luz láser en la muralla de la

sala donde fue realizado el experimento haciendo una marca en la posición respectiva. A continuación, se determinó la posición en el campo visual de la proyección del extremo superior del pecten de la retina, orientando el oftalmoscopio hacia este hito y luego realizando la proyección inversa. De esta manera, definimos en el espacio estas dos proyecciones. Utilizando las coordenadas de la proyección de las especializaciones visuales de la retina de la paloma definidas por Nalbach y col. y considerando la distancia entre el ojo de la paloma y la pared de la sala del experimento, se trianguló la posición esperada del campo receptivo de la fóvea central de la retina. Esta posición también fue registrada en la pared. Luego, se buscó en TeO el sitio de registro cuyo campo receptivo ser ubicara en aquella posición. Una vez encontrado, se procedió a realizar una inyección de rhod-BDA tal como se explica en la sección anterior.

4.4. Determinación fisiológica de la posición de los campos visuales de Ipc

En este experimento se ocuparon 2 palomas (*Columba livia*). Anexo al estereotáxico se ubicó una pantalla hemiesférica translúcida de acrílico, graduada en paralelos y meridianos separados cada 10 grados. Esta hemiesfera fue orientada en el ojo contralateral al lado del tectum, expuesto de manera que el centro de la hemiesfera estuviese alineado con la pupila del ojo. A continuación, se estimuló visualmente a la paloma, con un estímulo visual que consistió en la proyección de un haz de láser sobre la pantalla de acrílico. Una vez localizada la posición del campo receptivo del sitio de registro en Ipc, se procedió a cuantificar la posición y el área de campo receptivo utilizando la graduación de la hemiesfera.

La posición de los sitios de registro en Ipc se escogió en base de una malla tridimensional virtual, correspondiente a los ejes antero-posterior (AP), medio-lateral (ML) y dorso-ventral (DV) de Ipc. Estos sitios estuvieron separados por $400\ \mu$ en los ejes AP y ML, y distanciados cada $500\ \mu\text{m}$ en el eje DV, obteniéndose en total 54 puntos de registro. Con el fin de determinar la posición anatómica de la malla de registro en cada experimento se realizó una lesión electrolítica en el último sitio de registro. Luego de la lesión, se permitió la recuperación de las palomas por 12-24 horas. Durante este período se produce una gliosis o acumulación de glías en el área de la lesión, la que se utilizó para su posterior ubicación (ver métodos histológicos).

La distancia entre dos campos receptivos en la hemiesfera se cuantificó utilizando una calculadora de distancias entre dos puntos en una esfera disponible en la Internet (Williams, 2003). Asumimos que un grado es equivalente a un milímetro en el cálculo del factor de magnificación.

4.5. Métodos histológicos

Las palomas fueron anestesiadas profundamente y perfundidas a través de las arterias carótidas con 400mL de una solución de NaCl 0,75% p/v a temperatura ambiente y posteriormente con 400 mL de una solución fría de paraformaldehído 4%, pH 7.2. Los cerebros fueron extraídos del cráneo, mantenidos en una solución de paraformaldehído 4% y luego trasladados a una solución de sacarosa 30% p/v por 1-2 días. A continuación los cerebros fueron cortados coronalmente utilizando un micrótopo de congelación, obteniendo secciones de $60\ \mu\text{m}$ de grosor.

4.5.1. Identificación de los sitios de registro en Ipc

En los casos de lesiones electrolíticas, las secciones se sometieron al protocolo de tinción de Nissl. El sitio de la lesión fue identificada por una zona puntual de mayor densidad de células glías (gliosis), utilizando para esto un microscopio óptico convencional. Las secciones fueron fotografiadas con una cámara digital anexa al microscopio para su posterior análisis (ver Figura 11).

4.5.2. Identificación de la marca retrógrada en Ipc de las inyecciones de rhod-BDA en TeO

En las inyecciones de rhod-BDA, los sitios de registro en TeO y el transporte retrógrado del trazador en Ipc se localizaron mediante la observación directa de las secciones frescas en un microscopio de epifluorescencia y se fotografiaron con una cámara digital anexa al microscopio. Adicionalmente, las secciones se sometieron al protocolo de inmunoprecipitación de Avidina-Biotina-Peroxidasa. Luego, las secciones se montaron en portaobjetos y se sometieron a una contratinción con el protocolo de tinción de Nissl, obteniendo posteriormente fotografías de las secciones con marcas retrógradas mediante microscopía óptica convencional con un lente 2X. De esta manera se pudo observar la posición de las marcas retrógradas en relación a las estructuras cerebrales.

4.5.3. Identificación de la marca retrógrada en la retina de las inyecciones de rhod-BDA en TeO

La posición de las neuronas ganglionares en la retina marcadas por transporte retrógrado de las inyecciones tectales se determinó utilizando la técnica de montaje completo de la retina. Con el objetivo de realizar un protocolo distinto de fijación en el ojo, éstos fueron escindidos del cráneo posterior a la perfusión con la solución salina y previo a la aplicación de paraformaldehído 4%. Esta operación se realizó cortando el nervio óptico en la parte posterior del ojo. Luego de la escisión, los ojos se ubicaron en una placa Petri con algodón humedecido con solución Ringer (NaCl 0,75% p/v). En cada ojo se inyectó 200 μ L de paraformaldehído 1% con una jeringa, para conseguir una fijación menos intensa, la cual favorecía la separación de la retina del resto de los tejidos del ojo, en particular de la coroides. Una vez separada de la coroides, se realizaron en la retina 4-5 cortes radiales permitiendo su montaje en un portaobjetos. La retina fresca fue fotografiada completamente en el microscopio de epifluorescencia con magnificación 2X y 10X en el sitio de la marca retrógrada. Posteriormente, el portaobjetos se introdujo en un tubo cerrado en posición vertical y se completó su fijación exponiendo la retina a vapores de paraformaldehído 4% en un horno a 37° toda la noche. Luego, la retina fue fotografiada mediante microscopía óptica convencional con un lente de 2X. Con cada conjunto de fotografías de la retina obtenidas con epifluorescencia y microscopía óptica convencional se generó una composición de la retina completa. Luego estas fotografías se combinaron, identificando la posición de la marca retrógrada en las células ganglionares en la retina.

4.6. Modelación tridimensional de los núcleos istmo y TeO

En este experimento se utilizó una paloma (*Columba livia*). Esta paloma fue perfundida como se explica en los métodos histológicos, obteniéndose cortes de 60 μm de grosor. La totalidad de los cortes correspondientes al mesencéfalo de la paloma fueron montados en portaobjetos, sometiéndose posteriormente a tinción Nissl (ver métodos histológicos).

El modelado tridimensional de los núcleos istmo y TeO se realizó con un sistema NeuroLucida (MBF Bioscience, Williston, VT). Brevemente, este sistema consiste en un microscopio que cuenta con una platina motorizada, que permite registrar la dirección y magnitud de los movimientos mientras se observa una muestra en 3 ejes: x , y , z , donde z es el plano focal dentro de la muestra. NeuroLucida cuenta con una cámara digital ubicada en el microscopio que se encuentra conectada a un PC, permitiendo la visualización de la muestra en la pantalla del computador. Mediante el uso del mouse o tableta y un software asociado al sistema, se pudo dibujar los contornos de la serie de cortes transversales obtenidos de la paloma de los núcleos istmo (Ipc, Imc y SLu) y de TeO. En todos los trazos realizados quedó registrada la posición, en cada uno de los ejes, para cada punto del trazo. En particular, para el modelado de estos núcleos se utilizó una herramienta incluida en este software denominada "serial section manager". Esta permite reconstruir un volumen a partir de una serie de contornos.

4.7. Análisis Estadístico

Todas las pruebas estadísticas realizadas fueron calculadas utilizando Microsoft Office Excel. Los procedimientos de estadística no paramétrica fueron obtenidos de Siegel y Castellan (Siegel y Castellan, 1988). La prueba estadística utilizada para comparar los grupos de datos fue el test Robust Rank-Order. Este test es una variación del test de Wilcoxon-Mann-Whitney, y al igual que éste, permite conocer si dos grupos de datos muestreados independientemente pertenecen a una misma población de datos. El test de Wilcoxon-Mann-Whitney establece como hipótesis nula que la mediana de las poblaciones son la misma, implicando que las varianzas de las distribuciones son la misma. Dada la naturaleza de nuestros datos, desconocíamos si las varianzas de las distribuciones eran la misma, por lo que el test Robust Rank-Order fue más adecuado pues realiza la comparación de las muestras en base a un ranking de los datos.

5. RESULTADOS

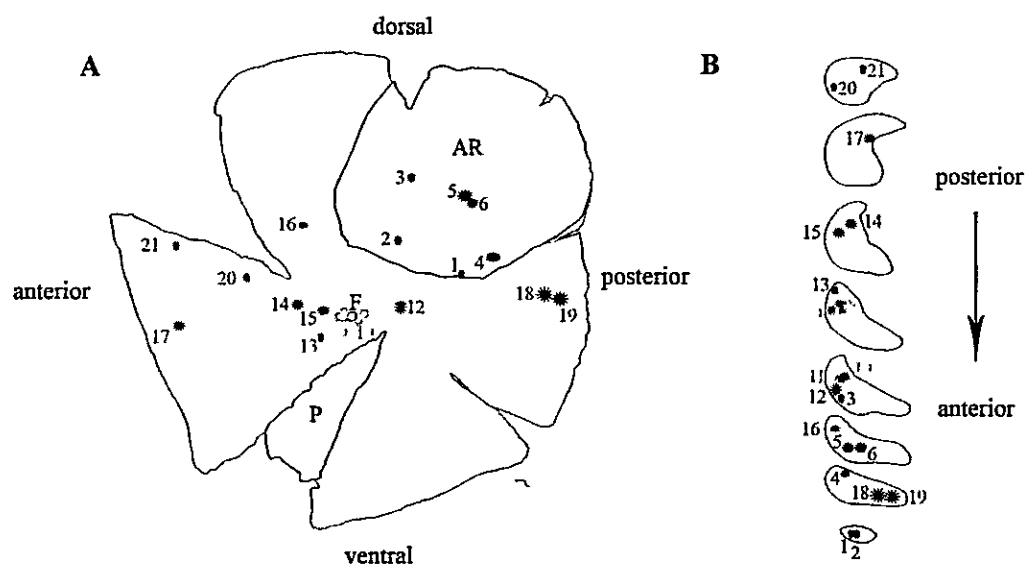
5.1. Inyección de trazador anatómico rhod-BDA en TeO: Determinación de la proyección Ipc-TeO

La **Figura 10** resume los resultados obtenidos con la inyección del trazador dextrán amina biotilado acoplado a rodamina (rhod-BDA) en el tectum óptico de la paloma (21 inyecciones, N° de palomas = 11). La **Figura 10 (A)** muestra un esquema de la posición de las poblaciones de neuronas ganglionares de la retina marcadas retrógradamente con inyecciones de rhod-BDA. Las neuronas ganglionares se encontraron distribuidas principalmente en loci de la retina que corresponden a campos visuales medio-inferiores, localizados en todo el eje naso-caudal de la retina. Estos resultados son compatibles con el hecho que en TeO de las aves existe una representación completa del campo visual. En este sentido, la ausencia de poblaciones de neuronas ganglionares en regiones más periféricas de la retina, en particular en la periferia ventral y dorsal, se debería sólo a la ausencia de inyecciones en aquellas áreas correspondientes en TeO. Estos resultados son concordantes con numerosas evidencias previas sobre la conectividad entre la retina y TeO en aves (Hamdi y Whitteridge, 1954; Clarke y Whitteridge, 1976; Frost y col., 1990; Remy y Gunturkun, 1991; Hahmann y Gunturkun, 1993; Inzunza y Bravo, 1993; Mpodozis y col., 1995; Karten y col., 1997; Letelier y col., 2004).

La **Figura 10 (B)** muestra la posición en el núcleo istmo parvocelular (Ipc)

de las poblaciones de neuronas simultáneamente marcadas con las inyecciones retrógradas de rhod-BDA en TeO. De acuerdo a los resultados obtenidos con la inyección de trazadores, en Ipc también se encuentra una representación de campos posteriores y anteriores del campo visual de la paloma. Esta representación incluyó a las dos zonas de mayor resolución de la retina, la fovea central y el área roja dorsal.

Figura 10. Distribución de las poblaciones de neuronas marcadas retrógradamente con inyecciones de rhod-BDA en el tectum óptico de *Columba livia*.



La figura resume la marca retrógrada obtenida simultáneamente en la retina y en Ipc luego de inyectar el trazador rhod-BDA en el tectum óptico (21 inyecciones, número de palomas=11). En el mapa de isodensidad de neuronas ganglionares en la retina de la paloma elaborado por Binggeli y Paule (Binggeli y Paule, 1969), se identificaron 4 regiones de distinta densidad. Se definió un color para cada región, asignándosele según su ubicación a cada marca retrógrada en la retina y la correspondiente en Ipc: Rojo, área roja; Amarillo, fovea central; Naranja, área perifoveal; Verde, periferia. (A) Poblaciones de RGCs retrógradamente marcadas en la retina. AR: área roja, F: fovea central, P: pecten. (B) Reconstrucción de una serie de cortes transversales en el núcleo Ipc separados por 180 μ m. Los ejes dorso-ventral y antero-posterior en la retina y en Ipc se indican en la figura.

5.2. Registro electrofisiológico en Ipc: Determinación de posición y tamaño de los campos receptivos en Ipc.

La actividad fisiológica neuronal en respuesta a estímulos visuales en Ipc ha sido descrita con anterioridad (Neuenschwander y Varela, 1993; Neuenschwander y col., 1996; Marin y col., 2005); ver sección 1.4.1 de **Introducción**. En este estudio, la actividad característica de este núcleo, denominada tipo DOR, se utilizó para localizar y cuantificar el tamaño del campo visual de los sitios de registro en Ipc.

5.2.1. Posición de los campos receptivos en Ipc

La distribución de la posición en el campo visual de la paloma de las respuestas visuales de los sitios de registro en Ipc se observan en la **Figura 11**. De los 54 puntos de registro preestablecidos en la malla tridimensional (ver materiales y métodos), en sólo 22 se encontró respuestas visuales tipo DOR. El análisis histológico de las lesiones realizadas en dos sitios de registro mostró que todos estos sitios de registro se ubicaron dentro de Ipc (ver **Figura 12**). Los campos receptivos de los sitios de registro se ubicaron a lo largo del eje antero posterior del campo visual de la paloma. Dado que estos campos receptivos también reflejan la posición de las neuronas NB ubicadas en TeO, este resultado concuerda con los obtenidos usando los trazadores anatómicos respecto a la extensión de la representación del campo visual en TeO, pues encontramos campos receptivos ubicados en gran parte del campo visual. Sin embargo, si bien la distribución de los campos receptivos abarcó tanto campos receptivos superiores como inferiores, los resultados

demuestran una mayor concentración de campos receptivos en la región medial de Ipc, que corresponde a regiones inferiores en el campo visual de la paloma.

Un resultado interesante de este estudio es la distribución de los campos receptivos en el campo visual en el eje antero-posterior. De acuerdo a nuestros resultados, en la región anterior de Ipc los campos receptivos de sitios de registro ubicados a lo largo de una misma penetración, es decir, en la misma posición en el eje antero-posterior y medio-lateral, pero a distintas profundidades, se superponían en el campo visual, principalmente en regiones inferiores. Sin embargo, en la región posterior de Ipc, estos campos se encontraban más separados en el campo visual, desplazándose desde regiones superiores en el campo visual hacia regiones inferiores. Calculamos la distancia entre los campos receptivos de sitios de registro ubicados en un misma coordenada en Ipc anterior (m=3 pares) y Ipc posterior (n=5 pares). Obtuvimos que la distancia en el campo visual entre sitios ubicados en Ipc anterior es significativamente menor (Robust Rank-Order Test, $p < 0,0003$) (ver **Figura 11**). Como se muestra en la discusión, esta diferencia se debería al plegamiento que sufre Ipc en su mitad posterior, lo que hace que las penetraciones verticales del electrodo atraviesen tangencialmente esta porción del núcleo (ver **Discusión**).

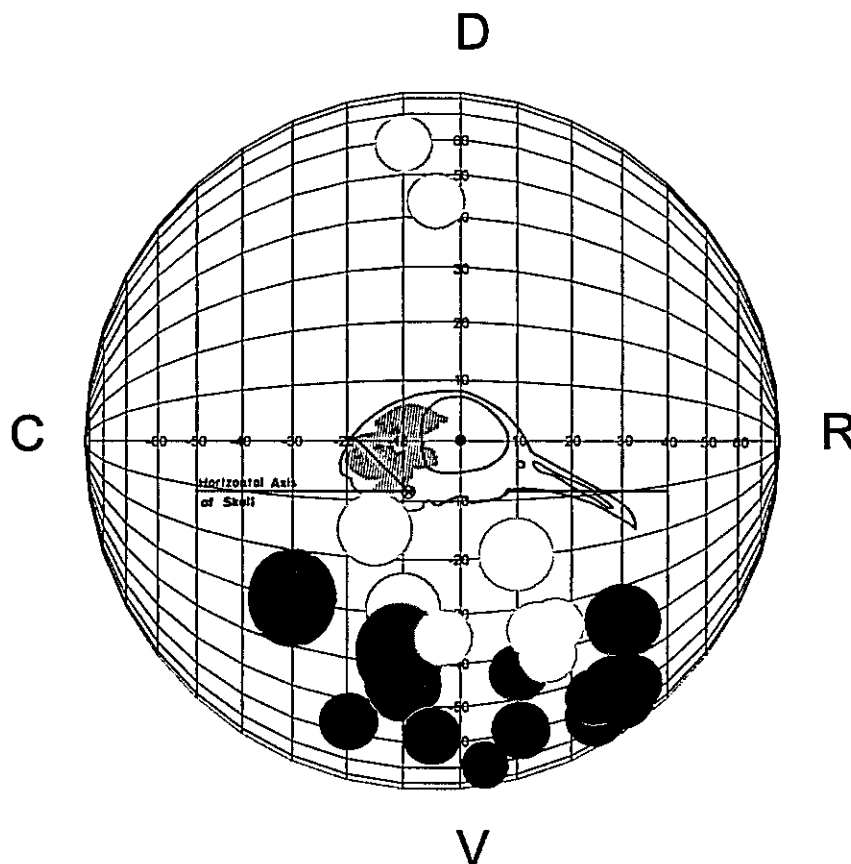
5.2.2. Tamaño de los campos receptivos en Ipc

El promedio del tamaño de los campos receptivos de los sitios de registro en Ipc fue de $13,2 \pm 3,6$ grados ($n=22$), lo que concuerda con lo obtenido anteriormente por otros autores (Marin y col., 2005). Encontramos que el tamaño de los campos receptivos en Ipc varió en función de la posición dentro del campo visual de la paloma. Se comparó el tamaño de los campos receptivos ubicados en la periferia ($m=9$) versus los que se ubicaron en el área roja ($n=13$). Se encontró que los campos receptivos ubicados en la periferia eran significativamente más grandes que los encontrados en el área roja (Robust Rank-Order Test, $p < 0.06$).

5.3. Factor de Magnificación en las distintas regiones del campo visual de la paloma

Con el objetivo de estimar la representación diferencial de cada región del campo visual en Ipc, calculamos un factor de magnificación para cada una de las regiones de la retina en Ipc. Para calcular este factor de manera independiente, aprovechamos la disponibilidad de dos grupos de datos, los obtenidos con los trazadores anatómicos y los obtenidos a través de los registros electrofisiológicos.

Figura 11. Distribución y tamaño de los campos receptivos de neuronas en el núcleo istmo parvocelular de la paloma



La figura muestra un esquema de la representación del campo visual del ojo derecho de la paloma. Esta representación corresponde a una hemiesfera centrada en el eje óptico de la paloma y que es similar a la utilizada en la obtención de los datos (ver **Materiales y Métodos**). Cada círculo en la representación corresponde al campo receptivo de un sitio de registro en Ipc. El tamaño de cada círculo es proporcional al tamaño del campo receptivo de sitio de registro respectivo. Los campos de color verde son los encontrados en la zona periférica del campo visual, mientras que los de color rojo se ubicaron en la proyección del área roja, según las coordenadas de las especializaciones visuales de la retina de la paloma en el campo visual publicadas por Nalbach y col. (Nalbach y col., 1990). En cada región, colores más intensos indican sitios de registro en Ipc medial y colores más claros indican sitios de registro en Ipc lateral. D: dorsal, V: ventral, C: caudal, R, rostral.

Figura 12. Lesión electrolítica en dos sitios de registro en Ipc

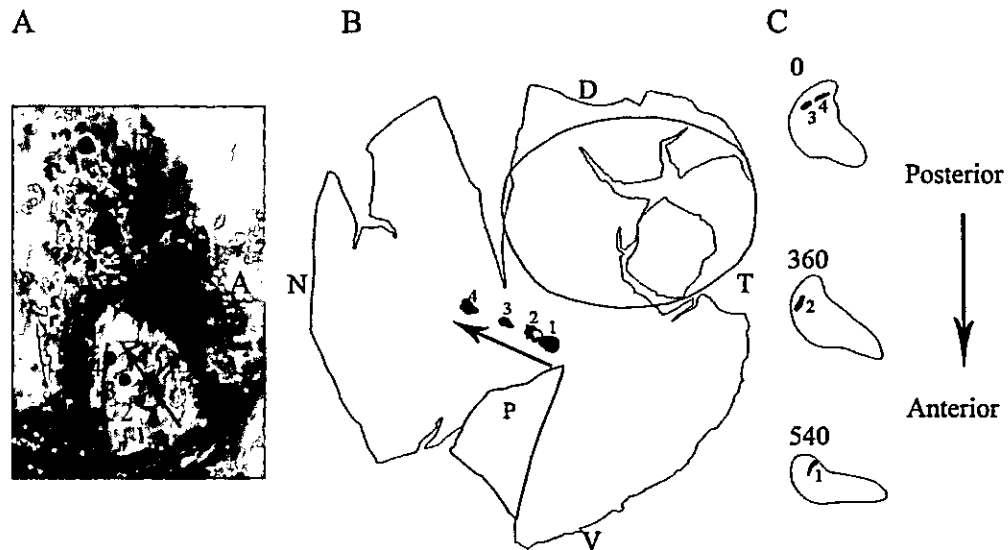


En la figura se muestran dos fotografías de cortes transversales en el mesencéfalo de la paloma. Cada corte corresponde a una de las dos palomas utilizadas en el experimento de registro electrofisiológico de los campos receptivos en Ipc. Los sitios de la lesión en Ipc se identificaron luego de aplicar una tinción Nissl a los cortes (ver **Materiales y Métodos**) y se indican en las fotografías con una flecha. (A) Corte en mesencéfalo anterior. (B) Corte en mesencéfalo posterior. Barra = 500 μ m

5.3.1. Factor de magnificación obtenido desde los resultados de inyecciones de trazadores anatómicos.

Realizamos dos aproximaciones para estimar el factor de magnificación de las distintas especializaciones visuales utilizando datos de inyecciones de trazadores anatómicos. En primer lugar, investigamos directamente la representación de la fovea centralis de la retina en el tectum óptico y en Ipc, realizando 4 inyecciones simultáneas del trazador BDA conjugado con rodamina en una línea que cruzaba la representación de la fovea en TeO (Nº palomas = 1, ver **Figura 13 (A)**). Cada inyección estaba separada por una distancia de 500µm medida en la superficie de TeO. A partir de estas inyecciones, se obtuvieron cuatro grupos de neuronas ganglionares de la retina (RGCs) con marca retrógrada (ver **Figura 13 (B)**) y otros cuatro grupos en Ipc (ver **Figura 13 (C)**). La distancia de los grupos de neuronas ganglionares próximos a la fovea central fue menor respecto a los grupos de neuronas ubicados más distales, en el área perifoveal. Definimos este factor de magnificación como $FM_{\text{TECTUM/RETINA}} = DT/DR$, donde DT es la distancia de las proyecciones entre estos grupos en TeO, que tiene un valor constante de 500 µm y DR es la distancia de separación entre los grupos de ganglionares en la retina. Encontramos que este factor decrece en un 51% a medida que nos alejamos de la fovea, representando el aumento de la distancia entre los grupos de RGCs en la retina (ver **Tabla 1**). Además definimos un factor de magnificación en Ipc de los grupos de neuronas que resultaron marcados con estas inyecciones como $FM_{\text{IPC-TECTUM}} = DI/DT$, donde DI es la separación entre los grupos de neuronas de Ipc que proyectan a estos loci y DT es la distancia entre las proyecciones de estos grupos en TeO, que tiene un valor constante de 500µm.

Figura 13. Representación de la fovea central en TeO y Ipc



La figura representa cuatro inyecciones de rhod-BDA realizadas en la superficie de TeO cada 500 μ m sobre una línea trazada sobre la representación de la fovea central de la retina de la paloma. (A) Esquema de la posición de las inyecciones realizadas en TeO del marcador retrógrado BDA acoplado a rodamina. La flecha azul indica la orientación de las inyecciones. Cada inyección está enumerada para su identificación en TeO y Ipc. (B) Reconstrucción de la retina observada bajo lente 2X. Superpuesto se encuentra un esquema de la posición las marcas retrógradas de las inyecciones de rhod-BDA en TeO. El contorno rojo indica la posición del área roja y el círculo amarillo indica la posición de la fovea. N: nasal, T: temporal, D: dorsal, V: ventral, P: Pecten. (C) Marcas retrógradas de las inyecciones tectales en Ipc. Se observan tres cortes transversales a través del mesencéfalo, en una serie antero-posterior, en los cuales fue encontrado el centro de cada marca retrógrada. Además se indica la separación entre cada corte (μ m).

Encontramos que este factor decrece en un 23% a medida que nos alejamos de la proyección de la fovea en TeO, lo que representa una disminución del área de Ipc donde se encuentra representada la región perifoveal en relación a la representación de la fovea central (ver **Tabla 1**). Con los datos disponibles pudimos calcular también un factor de magnificación $FM_{IPC/RETINA} = DI/DR$, donde DI es la distancia

entre dos grupos de células marcadas en Ipc y DR es la distancia entre los correspondientes grupos en la retina. Este valor disminuye en un 62% a medida que nos alejamos de la fovea. Este factor puede ser interpretado de la siguiente manera: para una determinada distancia entre dos loci en Ipc, la distancia entre los correspondientes loci en la retina es menor cuando nos encontramos sobre la representación de la fovea en Ipc. De esta manera, este factor resulta con una mayor magnitud. Estos resultados en conjunto indican que tanto en TeO como en Ipc, la fovea central alcanza una mayor representación en comparación al área perifoveal.

Tabla 1. Factor de Magnificación de la fovea central en TeO e Ipc

Par	Distancias			Factor de Magnificación		
	Retina [mm]	TeO [mm]	Ipc [mm]	FM _{TECTUM/RETINA}	FM _{IPC/TECTUM}	FM _{IPC/RETINA}
1-2	230	0,5	0,489	2,17	0,98	2,12
2-3	390	0,5	0,488	1,28	0,82	1,06
3-4	469	0,5	0,380	1,07	0,76	0,81

Note en la **Figura 12** que entre el par 1-2 se encuentra la representación de la fovea y que entre 3-4 se encuentra la representación del área perifoveal.

En la segunda aproximación, consideramos todas de inyecciones realizadas en TeO, que suman en total 21 inyecciones (incluyendo a las 4 inyecciones anteriores), lo que nos permitió comparar el factor de magnificación entre todas las regiones de la retina. Según el mapa de isodensidad de neuronas ganglionares de la retina calculado por Binggeli y Paule, identificamos 4 regiones distintas en función del valor de densidad de neuronas ganglionares de cada una de ellas (Binggeli y Paule, 1969). Estas corresponden por una parte a las dos áreas de mayor densidad de

RGCs de la paloma, el área roja y la fovea central, y por otra, a dos regiones periféricas de menor densidad, divididas en una zona perifoveal, que incluye 1 mm alrededor de la fovea más las regiones aledañas con densidades similares a esta área, y una zona más periférica, la que se ubica en las regiones más distales de la retina y presenta una baja densidad de neuronas ganglionares. De acuerdo a su posición en la retina, asignamos cada grupo de RGCs con marca retrógrada a una de estas regiones (Nº marcas: área roja = 6, fovea = 5, perifovea = 5, periferia = 5) (ver **Figura 10**). En cada región, calculamos la distancia entre grupos de RGCs para todos los pares. Paralelamente, calculamos la distancia entre los respectivos pares de grupos de neuronas en Ipc (Nº pares: área roja = 15, fovea = 10, perifovea = 10, periferia = 10). Con estos valores pudimos calcular un factor de magnificación $FM_{IPC/RETINA} = DI/DR$, donde DI es la distancia entre un par de grupos de neuronas en Ipc y DR es la distancia en la retina entre el correspondiente par de RGCs. De esta manera, generamos un conjunto de valores de factor de magnificación $FM_{IPC-RETINA}$ para cada región de la retina (ver **Tabla 2**). A continuación comparamos estos conjuntos entre regiones, utilizando una prueba estadística no paramétrica. Estos resultados se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 2. Promedio del Factor de Magnificación $FM_{IPC-RETINA}$ obtenido en cada región de la retina.

$FM_{IPC-RETINA}$ (promedio \pm desviación estándar)			
Área roja	Periferia	Perifóvea	Fóvea
0,65 \pm 0,31 n=15	0,58 \pm 0,33 n=10	0,68 \pm 0,20 n=10	1,78 \pm 1,06 n=10

Tabla 3. Resumen de resultados obtenidos con la aplicación de la prueba no paramétrica Robust Rank-Order Test entre los valores de factor de magnificación correspondientes a dos regiones distintas como se muestra en la tabla.

Región 1	Región 2	U	p
área roja	periferia	0,19	*
área roja	perifóvea	0,68	*
área roja	fóvea**	-4,54	0,00003
periferia	perifóvea	1,21	*
periferia	fóvea**	7,42	0,00003
perifóvea	fóvea**	5,42	0,00003

** factor de magnificación significativamente mayor

* no existen diferencias significativas

Como se observa en la **Tabla 3**, encontramos que el factor de magnificación en la representación de la fóvea en Ipc es significativamente mayor que en la representación del resto de las regiones de la retina. Sin embargo, no encontramos una diferencia significativa en el factor de magnificación cuando comparamos las representaciones del área roja y la perifóvea, el área roja y la periferia o la perifóvea y la periferia. Este resultado confirma la alta representación de la fóvea en Ipc y deja en duda una mayor representación del área roja en este núcleo.

5.3.2. Factor de magnificación obtenido desde los resultados de registros electrofisiológicos en Ipc.

Los resultados obtenidos con los registros electrofisiológicos de la actividad de neuronas NB en Ipc mostraron que el área roja sí se encuentra más representada que la periferia del campo visual. Según la posición en el campo visual del campo receptivo de un sitio de registro en Ipc, asignamos cada sitio de registro a uno de los siguientes grupos: Periferia ($m = 9$ sitios) o área roja ($n = 13$ sitios), cuya extensión y posición en el campo visual fue definida previamente para la paloma (Nalbach y col., 1990) (ver Figura 11). Estimamos la distancia entre sitios de registro en Ipc y la distancia entre los correspondientes campos receptivos en el campo visual de la paloma para cada par de sitios de registro en Ipc en cada uno de estos grupos (periferia, $m = 36$ pares; área roja = 78 pares). Definimos el factor de magnificación como $FM_{IPC-CAMPOVISUAL} = DI/DC$, donde DI es la distancia en Ipc entre el par de sitios de registro y DC es la distancia en el campo visual entre los campos receptivos del par de sitios de registro en Ipc. Encontramos que el factor de magnificación en la periferia fue 0,002 y en el área roja fue 0,061. Encontramos además que este factor es significativamente mayor en el área roja (Robust Rank-Order Test, $p < 0,0005$).

6. DISCUSION

Con el objetivo de estudiar la proyección Ipc-TeO, durante el desarrollo de este trabajo de investigación realizamos inyecciones del trazador rhod-BDA en TeO, en particular en la representación en TeO de las especializaciones retinales, la fovea y el área roja. Encontramos que la representación en TeO de ambas regiones de la retina están incluidas en la proyección Ipc-TeO. Además, estudiamos la proyección TeO-Ipc mediante registro electrofisiológico en Ipc, caracterizando el tamaño de los campos receptivos y su ubicación dentro del campo visual de la paloma. Este estudio arrojó como resultado que los campos receptivos de las regiones de Ipc donde se encuentra la representación del área roja se encuentran superpuestos en el espacio y poseen un menor tamaño cuando se les compara con los campos receptivos de regiones más periféricas. Finalmente, utilizando los datos de los experimentos anteriormente descritos calculamos un factor de magnificación en Ipc de las distintas regiones definidas en la retina, a saber, el área roja, la fovea, la perifovea y la periferia. Comparando este factor de magnificación entre estas regiones, encontramos que tanto la fovea central como el área roja tienen una mayor representación en Ipc que la perifovea y la periferia. A continuación revisaremos cada uno de estos resultados en detalle y realizaremos también una discusión de éstos en relación a la operación del circuito Teo-NI y la atención visual espacial.

6.1. Proyección Ipc-TeO

Los resultados de las inyecciones del trazador retrógrado rhod-BDA en TeO nos permitieron estudiar la proyección del núcleo Ipc sobre TeO. Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores en cuanto a las relaciones topográficas encontradas en esta proyección (Hunt y col., 1977; Gruberg y col., 2006; Maczko y col., 2006; Wang y col., 2006). Nuestros resultados además muestran que los axones de Ipc se conectan con las distintas regiones de TeO, incluyendo la representación tectal de las especializaciones retinales con mayor resolución visual, como la fovea central y el área dorsal, lo cual no había sido antes demostrado. Dada la relevancia que tienen estas regiones en distintas conductas de las palomas, este trabajo refuerza la idea que Ipc podría participar en la generación de focos de atención en regiones perceptualmente significativas del campo visual de la paloma.

6.2. Proyección TeO-Ipc

El estudio de la distribución de los campos receptivos de las neuronas de Ipc nos permitió estimar la proyección de las neuronas NB sobre esta estructura. Encontramos que los campos receptivos de esta proyección se ubicaron en varias regiones del campo visual. Sin embargo, basándonos en la distribución de estos campos receptivos en el campo visual de la paloma, mostramos que en la proyección TeO-Ipc estarían mayormente representadas las regiones medio-inferiores del campo visual de la paloma, incluyendo la región que representa el área roja.

Adicionalmente, el tamaño de los campos receptivos fue significativamente menor en la zona del campo visual correspondiente al área roja en comparación a la periferia del campo visual. Pensamos que la diferencia de tamaño de los campos receptivos de las neuronas en estas regiones de Ipc es el reflejo de la convergencia diferencial de fotorreceptores en ganglionares en las regiones correspondientes en la retina, lo que ha sido reportado para la retina de la paloma (Querubin y col., 2009). Estos resultados en conjunto indican que la proyección TeO-Ipc seguiría la asimetría dorso-ventral encontrada en las capas tectales 4 y 5, lo que podría tener importantes consecuencias en el funcionamiento de la red istmo-tectal como generador de focos atencionales. Este punto será discutido más adelante.

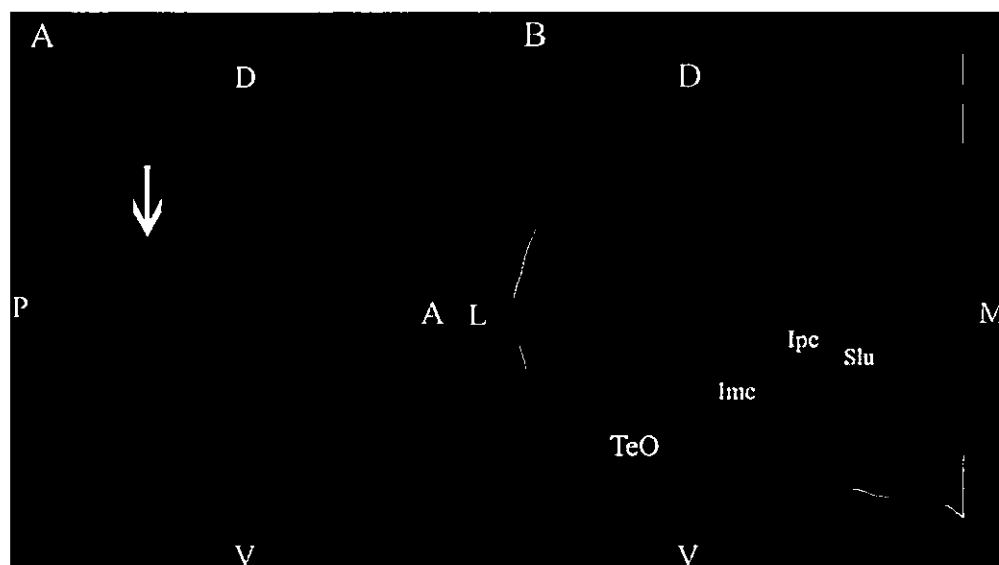
Una observación de los resultados del registro de los campos receptivos de las neuronas en Ipc mostró que la superposición de estos campos receptivos en el campo visual de la paloma es desigual. Esto se manifestaba en el hecho de que en una misma coordenada antero-posterior y medio-lateral, a distintas profundidades dentro del eje dorso ventral en Ipc anterior, los campos receptivos estaban considerablemente superpuestos. Por el contrario, en estas mismas condiciones en Ipc posterior, los campos receptivos ubicadas a distintas profundidades en el eje dorso-ventral mostraron estar significativamente más separados en el campo visual de la paloma, produciéndose un corrimiento de los campos desde posiciones más superiores a posiciones más inferiores. Una explicación para esta asimetría se encontró luego de realizar un modelo en tres dimensiones de los núcleos istmo y TeO (ver **Figura 14**). En esta reconstrucción se puede apreciar un plegamiento de los núcleos Imc y Ipc en su región más posterior. Mientras que en la región anterior estos núcleos se extienden en una lámina en el eje antero-posterior, los mismos

sufren una curvatura en la región posterior quedando la representación del eje antero-posterior del campo visual en una orientación dorso-ventral. Un dato adicional necesario para entender la diferencia en el grado de superposición de los campos visuales de las neuronas en Ipc se encuentra en la orientación tanto de la arborización dendrítica de las neuronas del núcleo Ipc como la de los terminales axónicos de las neuronas NB. En efecto, Wang y col. (2006) encontraron que en la región media de Ipc, la mayoría de las neuronas extendían sus dendritas formando una columna que cubría todo el eje dorso-ventral de Ipc. De esta manera, neuronas situadas en la porción dorsal tenían una arborización más larga hacia ventral. Similarmente, las neuronas situadas en la porción ventral extendían sus dendritas con una mayor longitud hacia dorsal (Wang y col., 2006). Adicionalmente, los axones de las neuronas NB en la misma región media de Ipc se ramifican de manera columnar, siguiendo la misma orientación de los árboles dendríticos. Estas observaciones explicarían la cercanía de los campos receptivos en Ipc anterior. Si la proyección TeO-Ipc es homotópica, dentro de una columna dorso ventral en Ipc anterior deberíamos encontrar proyecciones de neuronas NB ubicadas en una misma posición en TeO. En cambio, en Ipc posterior, al movernos en un sentido dorso-ventral, avanzaríamos de manera tangencial a la lámina formada por Ipc en esta región, y por lo tanto los campos receptivos registrados en esa trayectoria debieran desplazarse de manera progresiva. En otras palabras, nuestros resultados fisiológicos sumados a la reconstrucción tridimensional del núcleo, demuestran que Ipc tiene una organización laminar, y que los campos receptivos de las neuronas ubicados en una columna perpendicular a dicha lámina representan el mismo lugar del espacio.

Restaría determinar cuál es la distribución precisa de los axones provenientes de una columna de Ipc en la superficie de TeO.

Entendiendo esta diferencia entre Ipc anterior y posterior es posible que el muestreo de campos receptivos haya sido insuficiente en Ipc posterior, por lo que nuevos registros serán necesarios para estudiar las características de esta proyección en la región superior del campo visual.

Figura 14. Modelo tridimensional de los núcleos istmo y tectum óptico de la paloma



La figura muestra una reconstrucción tridimensional de los núcleos istmo y TeO, realizada a partir de una serie de cortes transversales de 60µm de espesor del mesencéfalo de la paloma (ver **Materiales y Métodos**). Cada trazo corresponde a un corte dentro de esta serie. Cada estructura tiene asignado un color: Naranja, tectum óptico; Fucsia: Imc; Verde: Ipc; Amarillo:SLu. (A) vista lateral del modelo. Note la curvatura de los núcleos istmo en posterior, indicada con la flecha blanca. D: dorsal, V:ventral, P: posterior, A: anterior. (B) vista frontal de una versión sólida del modelo tridimensional. L: lateral, M: medial, D: dorsal, V: ventral.

6.3. Magnificación de las distintas regiones retinales en Ipc

El determinar la magnificación de las distintas regiones de la retina en Ipc resulta relevante si consideramos la participación de este núcleo en la formación de un foco atencional, puesto que podría esperarse que las zonas del campo visual conductualmente importantes en la paloma, como son las regiones de alta resolución de la retina, debieran estar altamente representadas en este núcleo. Alternativamente, una de estas zonas podría estar más representada que la otra, lo que sugeriría que el circuito istmo-tectal forma parte de un mecanismo atencional dedicado a conductas visuales específicas.

Usando dos aproximaciones diferentes, los resultados de las inyecciones tectales de rhod-BDA nos permitieron estimar la distancia entre grupos de células retrógradamente marcadas en Ipc y la retina. En cada región de la retina, obtuvimos el valor del cociente de la distancia entre dos grupos de células marcados en Ipc y los correspondientes grupos de células RGC en la retina, al cual denominamos como factor de magnificación. Esta medida nos permitió comparar la representación de cada una de las regiones retinales en Ipc. Los resultados muestran que la fovea central tiene una alta representación en Ipc, y su magnificación es significativamente mayor cuando se compara con el resto de las regiones retinales, área roja, periferia y perifovea. Sin embargo, los datos anatómicos disponibles no mostraron una diferencia significativa entre el área roja y el resto de las especializaciones. Considerando el mapa de isodensidad de neuronas ganglionares de la retina, publicado por Binggeli y Paule (Binggeli y Paule, 1969), es posible explicar la falta de una diferencia significativa entre la magnificación del área roja y la región perifoveal en Ipc. De acuerdo a este mapa, en el área roja, a excepción del área

dorsalis localizada dentro de ésta, se encuentra una densidad equivalente de neuronas ganglionares en comparación con el área perifoveal. De modo que si nuestras inyecciones en el área roja no estuvieron localizadas en la representación central del área roja, como fue mayoritariamente el caso, no era de esperar una diferencia muy significativa. En cuanto a la diferencia entre el área roja y la periferia, tampoco pudimos determinar una diferencia significativa entre los valores de factor de magnificación en Ipc de estas dos regiones, lo que también podría deberse a la razón anterior. En todo caso, en promedio, el factor de magnificación en el área roja sí fue mayor en comparación al de la periferia (área roja = 0,65; periferia = 0,58). Más aún, los resultados electrofisiológicos, que determinaron la posición de los sitios de registro en Ipc y la respectiva separación de los campos receptivos en el campo visual, mostraron que el área roja efectivamente cuenta con una mayor magnificación en Ipc en relación a la periferia.

En resumen, sumando los resultados anatómicos y fisiológicos podemos concluir que las dos regiones retinianas de mayor resolución espacial están representadas en una proporción mayor de Ipc respecto de las zonas más periféricas, presumiblemente siguiendo la mayor representación que estas zonas tienen en el tectum. Esto sugeriría que el circuito istmo-tectal puede potenciar la percepción de estímulos en cualquier región del espacio visual, en particular de aquellos ubicados en las zonas frontal y lateral, que se relacionan principalmente con conductas de exploración visual.

6.4. Participación del circuito de retroalimentación Ipc-TeO en la formación de un foco atencional.

En este trabajo propusimos la existencia de una asimetría anatómica en la conexión istmo-tectal, la cual podría manifestar una proyección diferencial de las distintas zonas de la retina en el mapa retino-tectal. Esta asimetría a su vez explicaría el comportamiento de este sistema durante la presentación de estímulos simultáneos en distintas regiones del campo visual, determinando la posición de un nuevo foco de atención visual.

La participación de los núcleos istmo en la generación de focos de atención visual ha sido propuesta por varios autores (Serenio y Ulinski, 1987; Gruberg y col., 1991; Wang y col., 2004; Marin y col., 2005; Gruberg y col., 2006; Maczko y col., 2006; Wang y col., 2006; Marin y col., 2007; Asadollahi y col., 2010; Mysore y col., 2010). En estos estudios se ha planteado que tanto Ipc como TeO, al presentar una representación topográfica del campo visual, podrían constituir mapas de saliencia, donde se integrarían aferencias de distintas modalidades sensoriales de los distintos estímulos del campo visual. En este mapa, cada uno de los estímulos tendría una importancia relativa, la cual determinaría la dirección de la atención visual hacia un estímulo en particular. Al respecto, un reciente trabajo de Asadollahi y col. muestra que en lechuzas, las neuronas en Ipc responden a distintas propiedades de los estímulos visuales, como tamaño, orientación o contraste, pero no presentan una sintonización respecto a algún valor de éstas. En cambio, éstas responderían a la intensidad relativa de los estímulos en el campo visual (Asadollahi y col., 2010). Estos autores también encontraron que la posición de los estímulos visuales en el campo visual es definitoria sobre la importancia relativa que adquiere un estímulo en

el mapa de saliencia. Es así que muestran que durante la presentación de estímulos simultáneos, un estímulo distractor inhibe a un estímulo en un sitio de prueba con mayor fuerza si este se presenta en el mismo hemicampo visual, en particular si está ubicado en una posición más posterior que el estímulo en el sitio de prueba en el campo visual. Este resultado confirma lo encontrado por Marin y col. anteriormente, donde se demostró que estímulos periféricos inhiben con mayor fuerza a estímulos ubicado en posiciones medio-inferiores en el campo visual (Marin y col., 2007).

Nuestros resultados en conjunto muestran que en Ipc se encuentra una representación detallada de las zonas del campo visual correspondientes a los campos receptivos de las regiones de la retina con mayor resolución visual. Por el contrario, regiones más periféricas mostraron tener una menor representación en este núcleo. Sin embargo, los resultados del registro en Ipc de la presentación de estímulos simultáneos en el campo visual muestran que las regiones más periféricas son capaces de inhibir con mayor fuerza a regiones correspondientes a zonas del campo visual con mayor resolución espacial. Podemos desprender de lo anterior que no es la resolución visual un factor clave en este proceso de selección de estímulos, lo que es corroborado con los resultados obtenidos por Asadollahi y col., mencionados anteriormente. Cabe señalar que en mamíferos, incluyendo humanos, los estímulos en movimiento presentados en zonas periféricas del campo visual son muy eficientes en capturar la atención, aun cuando la representación de estas zonas es menor que la representación foveal en casi todas las áreas visuales estudiadas (Jonides y Irwin, 1981; Egeth y Yantis, 1997; Bayle y col., 2009; Galletti y col., 2010; Hermens y Walker, 2010). Respecto al caso particular del circuito istmo-tectal pensamos que hay varias alternativas que pueden brindar una explicación a la

asimetría encontrada en las interacciones inhibitorias. En primer lugar, Letelier y col. demostraron que en TeO se presenta una variación regional de la amplitud del potencial local de campo, encontrándose una mayor amplitud en las regiones de TeO correspondientes a zonas más periféricas del campo visual (Letelier y col., 2004). Según estos autores, esta diferencia de amplitud se podría deber a distintas propiedades y densidades de las neuronas ganglionares de la retina en estas regiones y/o la actividad de elementos postsinápticos de estas regiones. Pensamos que entre estos elementos postsinápticos puede encontrarse una variación regional de la morfología de los terminales en pincel, la cual podría ser responsable de esta variación de la amplitud del potencial de campo en las distintas regiones de TeO. El resultado del trabajo de estos autores indica que en regiones más periféricas, las repuestas podrían ser intrínsecamente de mayor magnitud, favoreciendo la selección de estímulos en estas regiones. Otros estudios también plantean diferencias regionales en los campos receptivos de neuronas ganglionares de la retina en TeO, como el realizado por Gu y col. en la paloma (Gu y col., 2000). En este sentido, nuestros resultados indican que esta variación regional se mantiene en Ipc, con campos receptivos en regiones periféricas de mayor tamaño en comparación a los encontrados en el área roja.

Otro elemento que puede ser clave en esta asimetría en la competencia de estímulos es la proyección de TeO sobre Imc, la que también ocurre a través de neuronas tipo NB (Wang y col., 2006). Si la distribución de las neuronas NB que proyectan a Imc tuviera una mayor densidad en la región de TeO donde se representa la periferia en comparación a otras regiones, la asimetría encontrada en los experimentos de competencia de estímulos podría ser fácilmente explicada. Por

ejemplo, la estimulación de una zona inferior del campo visual, que corresponde a la representación del área roja en TeO, activaría a unas pocas neuronas NB en el tectum ventral, activando la modulación GABAérgica de un número proporcionalmente bajo de neuronas en Imc. La aparición de un estímulo en un campo periférico en cambio activaría en proporción a un mayor número de neuronas NB. La activación de un gran número de neuronas en TeO activaría una mayor cantidad de neuronas en Imc, las cuales inhibirían la actividad de células de Ipc en su representación del área roja, explicando así la naturaleza inhibitoria de la estimulación de campos periféricos sobre los campos con mayor resolución espacial. Sin embargo, esta posibilidad no es muy atractiva, dado que las neuronas NB que proyectan a Imc parecen ser la mismas que proyectan a Ipc, y resulta poco parsimonioso pensar que la proyección a Imc tenga el énfasis reverso respecto de la proyección a Ipc.

Otra posibilidad no investigada en este trabajo es que la asimetría ocurra directamente en la proyección de Imc a Ipc. Así, las zonas de Imc que representan las partes superiores del campo visual podrían proyectar más densamente, o con una mayor eficacia, sobre Ipc que las zonas de Imc que representan campos inferiores. De esta manera, podría haber dos tipos de asimetrías en circuito istmo-tectal. Por una parte, la asimetría de las conexiones recíprocas excitatorias entre Ipc y TeO, que enfatizarían la representación en Ipc de las zonas retinianas de mayor resolución espacial. Y por otra, la de las conexiones inhibitorias entre Imc y Ipc, que promoverían un efecto inhibitorio más potente de las zonas de representación superior y periféricas sobre las zonas inferiores.

7. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES FUTURAS

El estudio de la organización funcional del circuito de retroalimentación TeO-NI, en particular de la proyección recíproca entre Ipc y TeO, nos permitió lograr una mejor comprensión de la participación de estas estructuras en un sistema de atención visual espacial. La operación de este circuito facilitaría la percepción de estímulos visuales en regiones acotadas del campo visual, de acuerdo a la configuración de los estímulos presentes en un momento dado durante el actuar del animal.

Considerando la alta representación de las especializaciones retinales en el núcleo Ipc de la paloma que fue descrita en este trabajo, podemos concluir que las proyecciones recíprocas entre Ipc y TeO siguen la asimetría encontrada en las proyecciones de la retina a TeO. Esto implica que esta proyección estaría especialmente vinculada con la discriminación de estímulos visuales durante la exploración visual, que en el caso de la paloma se realiza principalmente en las regiones del campo visual que se proyectan en las especializaciones retinianas de mayor resolución espacial. Esta discriminación incluiría por ejemplo la selección de los objetos en el suelo durante el picoteo, los cuales se proyectan en el área roja de la retina o la observación de estímulos más distantes proyectados en la fovea central durante la vigilancia de depredadores o durante el vuelo.

En vista a la operación del circuito istmo tectal en su conjunto, nuestros resultados sumados a evidencia anterior sugieren que este sistema permitiría la

alternancia del énfasis en la atención visual, el cual estaría relacionado a distintas conductas que se encontrarían regionalizadas en el campo visual. Por una parte, nuestros resultados muestran que red istmo-tectal permitiría una discriminación y selección fina de estímulos visuales en el espacio, en particular en las regiones inferiores y frontales del campo visual, y por otra sería susceptible a rápidos desplazamientos del foco de atención cuando aparece un estímulo visual novedoso en el espacio, en especial si éste se encuentra en la periferia del campo visual. Este mecanismo podría explicar por ejemplo la alternancia entre conductas de escape y la búsqueda de alimento en la paloma.

Cabe señalar que en el mapa de saliencia generado en la representación del campo visual en TeO donde los distintos estímulos visuales “compiten” por un foco atencional, convergen también estructuras más centrales del cerebro de la paloma y la importancia relativa de un estímulo visual podría ser modulada en función de algunos aspectos cognitivos de los estímulos visuales, tanto por sus propiedades visuales como por su ubicación en el espacio. De esta manera, el aprendizaje de los seres vivos en su medio también podría modular la formación de un nuevo foco de atención visual.

Los núcleos del istmo aún no han sido identificados en agnatos (*Agnatha*), las lampreas (*Cephalaspidomorphi*) y los mixines (*Myxini*) (Nieuwenhuys y col., 1998). Sin embargo, ya han sido descritos en el tegmento de algunos grupos basales de tiburones y rayas (*Chondrichthyes*), pese a que todavía se desconoce si poseen conexiones recíprocas con TeO (Butler y Hodos, 1996; Nieuwenhuys y col., 1998). En varios peces óseos sí han sido descritas las proyecciones recíprocas entre NI y TeO (Xue y col., 2001; Kinoshita y col., 2006), y ha sido demostrado el

desplazamiento del foco de atención por un estímulo saliente (Northmore, 1991; Gallagher y Northmore, 2006; Gruberg y col., 2006). A partir de estos resultados suponemos que el circuito istmo-tectal se relacionaría con la exploración visual y la atención visual a estímulos novedosos en el espacio al menos en los gnatostomados (Gnathostomata). Además, del mismo modo que en la paloma, esperamos que las regiones de alta resolución visual también se encuentren magnificadas en este circuito en otros organismos que posean especializaciones en la retina de acuerdo a su modo de vida, lo cual ha sido reportado en peces (Collin, 1989; Wagner y col., 1998; Collin y col., 2000; Bozzano, 2004), anfibios (Dunlop y Beazley, 1981; Graydon y Giorgi, 1984), reptiles (Wilhelm y Straznicky, 1992; El Hassni y col., 1997), aves (Bravo y Pettigrew, 1981; Moroney y Pettigrew, 1987; Hayes y col., 1991; Inzunza y col., 1991; Boire y col., 2001; Hart, 2002; Coimbra y col., 2006) y mamíferos (Beazley y Dunlop, 1983; Andrade da Costa y col., 1989; Stone y Halasz, 1989; Picancodiniz y col., 1991; Akaishi y col., 1995; Harman y col., 2000). De esta manera, el circuito istmo-tectal podría constituir un mecanismo general de selección de estímulos visuales, el cual podría estar presente quizás desde el origen de los vertebrados.

8. BIBLIOGRAFIA

- Akaishi, Y., Uchiyama, H., Ito, H. y Shimizu, Y. 1995. A morphological-study of the retinal ganglion-cells of the Afghan pika (*Ochotona rufescens*). *Neuroscience Research* **22**: 1-12
- Andrade da Costa, B.L.S., Pessoa, V.F., Bousfield, J.D. y Clarke, R.J. 1989. Ganglion-cell size and distribution in the retina of the 2-Toed sloth (*Choloepus didactylus* L). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **22**: 233-236
- Armstrong, K.M., Fitzgerald, J.K. y Moore, T. 2006. Changes in visual receptive fields with microstimulation of frontal cortex. *Neuron* **50**: 791-798
- Asadollahi, A., Mysore, S.P. y Knudsen, E.I. 2010. Stimulus-driven competition in a cholinergic midbrain nucleus. *Nature Neuroscience* **13**: 889-895
- Awh, E., Armstrong, K.M. y Moore, T. 2006. Visual and oculomotor selection: links, causes and implications for spatial attention. *Trends in Cognitive Sciences* **10**: 124-130
- Bayle, D.J., Henaff, M.A. y Krolak-Salmon, P. 2009. Unconsciously perceived fear in peripheral vision alerts the limbic system: A MEG study. *PLoS One* **4**: 9
- Beazley, L.D. y Dunlop, S.A. 1983. The evolution of an area centralis and visual streak in the marsupial *Setonix brachyurus*. *Journal of Comparative Neurology* **216**: 211-231
- Bender, D.B. y Youakim, M. 2001. Effect of attentive fixation in macaque thalamus and cortex. *Journal of Neurophysiology* **85**: 219-234
- Bergeron, A., Matsuo, S. y Guitton, D. 2003. Superior colliculus encodes distance to target, not saccade amplitude, in multi-step gaze shifts. *Nature Neuroscience* **6**: 404-13
- Binggeli, R.L. y Paule, W.J. 1969. Pigeon retina - quantitative aspects of optic nerve and ganglion cell layer. *Journal of Comparative Neurology* **137**: 1-18
- Binns, K.E. y Salt, T.E. 2000. The functional influence of nicotinic cholinergic receptors on the visual responses of neurones in the superficial superior colliculus. *Visual Neuroscience* **17**: 283-9
- Bloch, S. y Martinoya, C. 1982. Comparing frontal and lateral viewing in the pigeon. I. Tachistoscopic visual acuity as a function of distance. *Behavioural Brain Research* **5**: 231-44
- Bloch, S., Rivaud, S. y Martinoya, C. 1984. Comparing frontal and lateral viewing in the pigeon. III. Different patterns of eye movements for binocular and monocular fixation. *Behavioural Brain Research* **13**: 173-82
- Boire, D., Dufour, J.S., Theoret, H. y Ptito, M. 2001. Quantitative analysis of the retinal ganglion cell layer in the ostrich, *Struthio camelus*. *Brain Behavior and Evolution* **58**: 343-355
- Bozzano, A. 2004. Retinal specialisations in the dogfish *Centroscymnus coelolepis* from the Mediterranean deep-sea. *Scientia Marina* **68**: 185-195
- Bravo, H. y Pettigrew, J. 1981. The distribution of neurons projecting from the retina and visual-cortex to the thalamus and tectum opticum of the Barn owl, *Tyto*

- alba, and the Burrowing owl, *Speotyto cunicularia*. *Journal of Comparative Neurology* **199**: 419-441
- Budnik, V., Mpodozis, J., Varela, F.J. y Maturana, H.R. 1984. Regional specialization of the quail retina - ganglion-cell density and oil droplet distribution. *Neuroscience Letters* **51**: 145-150
- Butler, A.B. y Hodos, W. 1996. *En* Wiley-Liss (eds.), *Comparative Vertebrate Neuroanatomy : Evolution and adaptation*. pp514
- Clarke, P.G.H. y Whitteridge, D. 1976. Projection of retina, including red area, on to optic tectum of pigeon. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences* **61**: 351-&
- Coimbra, J.P., Marceliano, M.L.V., Andrade da Costa, B.L.D. y Yamada, E.S. 2006. The retina of tyrant flycatchers: Topographic organization of neuronal density and size in the ganglion cell layer of the great kiskadee Pitangus sulphuratus and the rusty margined flycatcher *Myiozetetes cayanensis* (Aves : Tyrannidae). *Brain Behavior and Evolution* **68**: 15-25
- Collin, S.P. 1989. Topographic organization of the ganglion-cell layer and intraocular vascularization in the retinae of 2 reef Teleosts. *Vision Research* **29**: 765-&
- Collin, S.P., Lloyd, D.J. y Wagner, H.J. 2000. Foveate vision in deep-sea teleosts: a comparison of primary visual and olfactory inputs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **355**: 1315-1320
- du Lac, S. y Knudsen, E.I. 1990. Neural maps of head movement vector and speed in the optic tectum of the Barn owl. *Journal of Neurophysiology* **63**: 131-46
- Dudkin, E.A. y Gruberg, E.R. 2003. Nucleus isthmi enhances calcium influx into optic nerve fiber terminals in *Rana pipiens*. *Brain Research* **969**: 44-52
- Dunlop, S.A. y Beazley, L.D. 1981. Changing retinal ganglion-cell distribution in the frog *Heleioporus eyrei*. *Journal of Comparative Neurology* **202**: 221-236
- Edwards, J.A. y Cline, H.T. 1999. Light-induced calcium influx into retinal axons is regulated by presynaptic nicotinic acetylcholine receptor activity in vivo. *Journal of Neurophysiology* **81**: 895-907
- Egeth, H.E. y Yantis, S. 1997. Visual attention: Control, representation, and time course. *Annual Review of Psychology* **48**: 269-297
- El Hassni, M., Mhamed, S.B., Reperant, J. y Bennis, M. 1997. Quantitative and topographical study of retinal ganglion cells in the chameleon (*Chameleo chameleon*). *Brain Research Bulletin* **44**: 621-625
- Freedman, E.G., Stanford, T.R. y Sparks, D.L. 1996. Combined eye-head gaze shifts produced by electrical stimulation of the superior colliculus in rhesus monkeys. *Journal of Neurophysiology* **76**: 927-52
- Frost, B.J., Wise, L.Z., Morgan, B. y Bird, D. 1990. Retinotopic representation of the bifoveate eye of the kestrel (*Falco sparverius*) on the optic tectum. *Visual Neuroscience* **5**: 231-239
- Galifret, Y. 1968. Les diverses aires fonctionnelles de la retine du pigeon. *Zeitschrift fur Mikroskopisch-Anatomische Forschung* **86**: 535-45
- Gallagher, S.P. y Northmore, D.P.M. 2006. Responses of the teleostean nucleus isthmi to looming objects and other moving stimuli. *Visual Neuroscience* **23**: 209-219

- Galletti, C., Breveglieri, R., Lappe, M., Bosco, A., Ciavarro, M. y Fattori, P. 2010. Covert shift of attention modulates the ongoing neural activity in a reaching area of the macaque dorsomedial visual stream. *PLoS One* **5**: e15078
- Graydon, M.L. y Giorgi, P.P. 1984. Topography of the retinal ganglion-cell layer of *Xenopus*. *Journal of Anatomy* **139**: 145-157
- Gruberg, E., Dudkin, E., Wang, Y., Marin, G., Salas, C., Sentis, E., Letelier, J., Mpodozis, J., Malpeli, J., Cui, H., Ma, R., Northmore, D. y Udin, S. 2006. Influencing and interpreting visual input: The role of a visual feedback system. *Journal of Neuroscience* **26**: 10368-71
- Gruberg, E.R., Wallace, M.T., Caine, H.S. y Mote, M.I. 1991. Behavioral and physiological consequences of unilateral ablation of the nucleus isthmi in the Leopard frog. *Brain Behavior and Evolution* **37**: 92-103
- Gu, Y., Wang, Y. y Wang, S.R. 2000. Regional variation in receptive field properties of tectal neurons in pigeons. *Brain Behavior and Evolution* **55**: 221-228
- Gunturkun, O. y Remy, M. 1990. The topographical projection of the nucleus isthmi pars-parvocellularis (Ipc) onto the tectum opticum in the pigeon. *Neuroscience Letters* **111**: 18-22
- Hafed, Z.M. y Krauzlis, R.J. 2010. Microsaccadic Suppression of Visual Bursts in the Primate Superior Colliculus. *Journal of Neuroscience* **30**: 9542-9547
- Hahmann, U. y Gunturkun, O. 1993. The visual acuity for the lateral visual field of the pigeon (*Columba livia*). *Vision Research* **33**: 1659-1664
- Hamdi, F.A. y Whitteridge, D. 1954. The representation of the retina on the optic tectum of the pigeon. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences* **39**: 111-119
- Harman, A., Abrahams, B., Moore, S. y Hoskins, R. 2000. Neuronal density in the human retinal ganglion cell layer from 16-77 years. *Anatomical Record* **260**: 124-131
- Hart, N.S. 2002. Vision in the peafowl (*Aves* : *Pavo cristatus*). *Journal of Experimental Biology* **205**: 3925-3935
- Hayes, B., Martin, G.R. y Brooke, M.D. 1991. Novel area serving binocular vision in the retinae of procellariiform seabirds. *Brain Behavior and Evolution* **37**: 79-84
- Hermens, F. y Walker, R. 2010. Gaze and arrow distractors influence saccade trajectories similarly. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* **63**: 2120 - 2140
- Hunt, S.P., Streit, P., Kunzle, H. y Cuenod, M. 1977. Characterization of pigeon isthmo-tectal pathway by selective uptake and retrograde movement of radioactive compounds and by golgi-like horseradish-peroxidase labeling. *Brain Research* **129**: 197-212
- Ignashchenkova, A., Dicke, P.W., Haarmeier, T. y Thier, P. 2004. Neuron-specific contribution of the superior colliculus to overt and covert shifts of attention. *Nature Neuroscience* **7**: 56-64
- Inzunza, O. y Bravo, H. 1993. Foveal topography in the optic nerve and primary visual centers in falconiforms. *The Anatomical Record* **235**: 622-631
- Inzunza, O., Bravo, H., Smith, R.L. y Angel, M. 1991. Topography and morphology of retinal ganglion-cells in falconiforms - a study on predatory and carrion-eating birds. *The Anatomical Record* **229**: 271-277
- Jonides, J. y Irwin, D.E. 1981. Capturing attention. *Cognition* **10**: 145-150

- Karten, H.J., Cox, K. y Mpodozis, J. 1997. Two distinct populations of tectal neurons have unique connections within the retinotectorotundal pathway of the pigeon (*Columba livia*). *Journal of Comparative Neurology* **387**: 449-65
- Karten, H.J. y Hodos, W. 1967. *En* Johns Hopkins Press (eds.), A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon, *Columba livia*. ppix, 193
- King, W.M. y Schmidt, J.T. 1991. The long latency component of retinotectal transmission: enhancement by stimulation of nucleus isthmi or tectobulbar tract and block by nicotinic cholinergic antagonists. *Neuroscience* **40**: 701-12
- Kinoshita, M., Ito, E., Urano, A., Ito, H. y Yamamoto, N. 2006. Periventricular efferent neurons in the optic tectum of Rainbow trout. *Journal of Comparative Neurology* **499**: 546-564
- Knudsen, E.I. 1982. Auditory and visual maps of space in the optic tectum of the owl. *Journal of Neuroscience* **2**: 1177-94
- Kustov, A.A. y Robinson, D.L. 1996. Shared neural control of attentional shifts and eye movements. *Nature* **384**: 74-77
- Letelier, J.C., Marin, G., Sentis, E., Tenreiro, A., Fredes, F. y Mpodozis, J. 2004. The mapping of the visual field onto the dorso-lateral tectum of the pigeon (*Columba livia*) and its relations with retinal specializations. *Journal of Neuroscience Methods* **132**: 161-8
- Maczko, K.A., Knudsen, P.F. y Knudsen, E.I. 2006. Auditory and visual space maps in the cholinergic nucleus isthmi pars parvocellularis of the Barn owl. *Journal of Neuroscience* **26**: 12799-12806
- Maldonado, P.E., Maturana, H. y Varela, F.J. 1988. Frontal and lateral visual-system in birds: frontal and lateral gaze *Brain Behavior and Evolution* **32**: 57-62
- Marin, G., Letelier, J.C., Henny, P., Sentis, E., Farfan, G., Fredes, F., Pohl, N., Karten, H. y Mpodozis, J. 2003. Spatial organization of the pigeon tectorotundal pathway: An interdigitating topographic arrangement. *Journal of Comparative Neurology* **458**: 361-380
- Marin, G., Mpodozis, J., Sentis, E., Ossandon, T. y Letelier, J.C. 2005. Oscillatory bursts in the optic tectum of birds represent re-entrant signals from the nucleus isthmi pars parvocellularis. *Journal of Neuroscience* **25**: 7081-9
- Marin, G., Salas, C., Sentis, E., Rojas, X., Letelier, J.C. y Mpodozis, J. 2007. A cholinergic gating mechanism controlled by competitive interactions in the optic tectum of the pigeon. *Journal of Neuroscience* **27**: 8112-21
- Martin, G.R. y Katzir, G. 1999. Visual fields in Short-toed eagles, *Circaetus gallicus* (Accipitridae), and the function of binocularity in birds. *Brain Behavior and Evolution* **53**: 55-66
- Martinoya, C., Le Houezec, J. y Bloch, S. 1984. Pigeon's eyes converge during feeding: evidence for frontal binocular fixation in a lateral-eyed bird. *Neuroscience Letters* **45**: 335-9
- Masino, T. y Knudsen, E.I. 1993. Orienting head movements resulting from electrical microstimulation of the brain-stem tegmentum in the Barn owl. *Journal of Neuroscience* **13**: 351-370
- Moore, T., Armstrong, K.M. y Fallah, M. 2003. Visuomotor origins of covert spatial attention. *Neuron* **40**: 671-683
- Moroney, M.K. y Pettigrew, J.D. 1987. Some observations on the visual optics of kingfishers (Aves, Coraciformes, Alcedinidae). *Journal of Comparative Physiology A-Sensory Neural and Behavioral Physiology* **160**: 137-149

- Mpodozis, J., Letelier, J.C., Concha, M.L. y Maturana, H. 1995. Conduction velocity groups in the retino-tectal and retino-thalamic visual pathways of the pigeon (*Columba livia*). *International Journal of Neuroscience* **81**: 123-36
- Muller, J.R., Philiastides, M.G. y Newsome, W.T. 2005. Microstimulation of the superior colliculus focuses attention without moving the eyes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 524-529
- Mysore, S.P., Asadollahi, A. y Knudsen, E.I. 2010. Global inhibition and stimulus competition in the owl optic tectum. *Journal of Neuroscience* **30**: 1727-1738
- Nalbach, H.-O., Wolf-Oberhollenzer, F. y Kirschfeld, K. 1990. The pigeon's eye viewed through an ophthalmoscopic microscope: Orientation of retinal landmarks and significance of eye movements. *Vision Research* **30**: 529-540
- Neuenschwander, S., Engel, A.K., Konig, P., Singer, W. y Varela, F.J. 1996. Synchronization of neuronal responses in the optic tectum of awake pigeons. *Visual Neuroscience* **13**: 575-84
- Neuenschwander, S. y Varela, F.J. 1993. Visually triggered neuronal oscillations in the pigeon: An autocorrelation study of tectal activity. *European Journal of Neuroscience* **5**: 870-81
- Nieuwenhuys, R., Donkelaar, H.J.t. y Nicholson, C. 1998. *En* Springer (eds.), The central nervous system of vertebrates. pp3 vols. +
- Northmore, D.P.M. 1991. Visual responses of nucleus isthmi in a Teleost fish (*Lepomis macrochirus*). *Vision Research* **31**: 525-535
- Nye, P.W. 1973. Functional differences between frontal and lateral visual fields of pigeon. *Vision Research* **13**: 559-574
- Phillips, A.N. y Segraves, M.A. 2010. Predictive activity in macaque frontal eye field neurons during natural scene searching. *Journal of Neurophysiology* **103**: 1238-1252
- Picancodiniz, C.W., Silveira, L.C.L., Decarvalho, M.S.P. y Oswaldocruz, E. 1991. Contralateral visual field representation in area 17 of the cerebral cortex of the agouti - a comparison between the cortical magnification factor and retinal ganglion-cell distribution. *Neuroscience* **44**: 325-333
- Posner, M.I. y Petersen, S.E. 1990. The attention system of the human brain. *Annual Reviews of Neuroscience* **13**: 25-42
- Querubin, A., Lee, H.R., Provis, J.M. y O'Brien, K.M.B. 2009. Photoreceptor and ganglion cell topographies correlate with information convergence and high acuity regions in the adult pigeon (*Columba livia*) retina. *Journal of Comparative Neurology* **517**: 711-722
- Remy, M. y Gunturkun, O. 1991. Retinal afferents to the tectum opticum and the nucleus opticus principalis thalami in the pigeon. *Journal of Comparative Neurology* **305**: 57-70
- Sapir, A., Soroker, N., Berger, A. y Henik, A. 1999. Inhibition of return in spatial attention: Direct evidence for collicular generation. *Nature Neuroscience* **2**: 1053-4
- Sato, T.R., Watanabe, K., Thompson, K.G. y Schall, J.D. 2003. Effect of target-distractor similarity on FEF visual selection in the absence of the target. *Experimental Brain Research* **151**: 356-363

- Sereno, M.I. y Ulinski, P.S. 1987. Caudal topographic nucleus isthmi and the rostral nontopographic nucleus isthmi in the turtle, *Pseudemys scripta*. *Journal of Comparative Neurology* **261**: 319-346
- Shipp, S. 2004. The brain circuitry of attention. *Trends in Cognitive Sciences* **8**: 223-230
- Siegel, S. y Castellan, N.J. 1988. *En McGraw-Hill (eds.), Nonparametric statistics for the behavioral sciences.* ppxxiii, 399 p.
- Stone, J. y Halasz, P. 1989. Topography of the retina in the elephant *Loxodonta africana*. *Brain Behavior and Evolution* **34**: 84-95
- Tombol, T., Eyre, M., Zayats, N. y Nemeth, A. 2003. The ramifications and terminals of optic fibres in layers 2 and 3 of the avian optic tectum: a golgi and light and electron microscopic anterograde tracer study. *Cells Tissues Organs* **175**: 202-22
- Tombol, T. y Nemeth, A. 1998. GABA-immunohistological observations, at the electron-microscopical level, of the neurons of isthmical nuclei in chicken, *Gallus domesticus*. *Cell Tissue Research* **291**: 255-66
- Treue, S. 2001. Neural correlates of attention in primate visual cortex. *Trends in Neuroscience* **24**: 295-300
- Veenman, C.L., Albin, R.L., Richfield, E.K. y Reiner, A. 1994. Distributions of GABAA, GABAB, and benzodiazepine receptors in the forebrain and midbrain of pigeons. *Journal of Comparative Neurology* **344**: 161-89
- Wagner, H.J., Frohlich, E., Negishi, K. y Collin, S.P. 1998. The eyes of deep-sea fish II. Functional morphology of the retina. *Progress in Retinal and Eye Research* **17**: 637-685
- Wang, Y., Luksch, H., Brecha, N.C. y Karten, H.J. 2006. Columnar projections from the cholinergic nucleus isthmi to the optic tectum in chicks (*Gallus gallus*): a possible substrate for synchronizing tectal channels. *Journal of Comparative Neurology* **494**: 7-35
- Wang, Y., Major, D.E. y Karten, H.J. 2004. Morphology and connections of nucleus isthmi pars magnocellularis in chicks (*Gallus gallus*). *Journal of Comparative Neurology* **469**: 275-97
- Wilhelm, M. y Straznický, C. 1992. The topographic organization of the retinal ganglion-cell layer of the lizard *Ctenophorus nuchalis*. *Archives of Histology and Cytology* **55**: 251-259
- Williams, E. 2003. Javascript Great Circle Calculator. <http://williams.best.vwh.net/gccalc.htm>. 10-11-2010
- Winkowski, D.E. y Knudsen, E.I. 2008. Distinct mechanisms for top-down control of neural gain and sensitivity in the owl optic tectum. *Neuron* **60**: 698-708
- Xue, H.G., Yamamoto, N., Yoshimoto, M., Yang, C.Y. y Ito, H. 2001. Fiber connections of the nucleus isthmi in the carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brain Behavior and Evolution* **58**: 185-204