



**Estudio morfofuncional de la formación
reticular mesencefálica en la carpa dorada
(*Carassius auratus*): Papel en la generación
de movimientos oculares sacádicos**

Departamento de Fisiología y Zoología

M^a de los Ángeles Luque Laó
2005

**Estudio morfofuncional de la formación
reticular mesencefálica en la carpa dorada
(*Carassius auratus*): Papel en la generación
de movimientos oculares sacádicos**

Departamento de Fisiología y Zoología

Fdo: M^a de los Ángeles Luque Laó

Estudio morfofuncional de la formación reticular mesencefálica en la carpa dorada (*Carassius auratus*): Papel en la generación de movimientos oculares sacádicos

Memoria presentada por la Licenciada
D^a M^a de los Ángeles Luque Laó para optar al
grado de Doctor en Farmacia por la Universidad de Sevilla

Directores de la Tesis:

Fdo: Blas Torres Ruiz
Profesor Titular de Fisiología
Dpto. de Fisiología y Zoología
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla

Fdo: Luis Herrero Rama
Profesor Colaborador de Fisiología
Dpto. de Fisiología y Zoología
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla

A mis padres

A Dani

A mis sobrinos

*“La ciencia, a pesar de sus progresos increíbles,
no puede ni podrá nunca explicarlo todo.
Cada vez ganará nuevas zonas a lo que hoy
parece inexplicable. Pero las rayas fronterizas
del saber, por muy lejos que se eleven, tendrán
siempre delante un infinito mundo de misterio”.*

(Gregorio Marañón)

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

Al Dr. Blas Torres Ruiz, director de este trabajo, por su apoyo, dedicación y la amistad que me brindó desde el primer día. Gracias también por haberme permitido entrar en el fascinante mundo de la neurociencia.

Al Dr. Luis Herrero Rama, codirector del trabajo, por su ánimo, paciencia y ayuda en la elaboración de esta memoria. También quiero agradecer su sincera amistad.

A la Dra. M^a Rosario Pásaro Dionisio, por su inestimable ayuda durante estos años, su amistad y constante entrega al grupo.

A Pili, por la ayuda que me brindó en mis inicios. Por su genial sentido del humor, la amistad que me demuestra cada día y espero conservar siempre.

A Pedro, porque sin él no hubiera sido posible conocer a Blas y realizar este trabajo, por su apoyo y amistad desde el principio.

A Jose Luis y Livia, mis niños, por ayudarme en todos los aspectos y por esa gran amistad que me han demostrado diariamente. A Juanlu, Juan, Espe, Rosa y Susana porque han hecho de estos años una agradable y enriquecedora experiencia en mi vida, por la amistad y los consejos que todos me han brindado.

A mis padres, por su constante apoyo, no sólo en estos últimos años sino durante toda mi vida, por su paciencia y su ánimo.

A Dani, por la fuerza e ilusión que me ha transmitido cada día, por su gran sentido del humor y, sobre todo, por su amor.

A mi hermano, por el cariño e interés que me ha demostrado estos años.

A mis sobrinos, por darme fuerza, alegría y mucho ánimo cuando lo he necesitado.

A mi familia en general, por su constante apoyo y comprensión.

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología, por su apoyo económico.

ÍNDICE

<u>1. INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. El sistema motor ocular de los vertebrados: Consideraciones generales.....	2
1.2. Sistema generador del movimiento ocular sacádico en mamíferos.....	7
1.2.1. Papel del colículo superior.....	7
Representaciones sensoriales.....	7
Codificación de la salida motora.....	9
Aferencias y eferencias motoras: Importancia de los sistemas de retroalimentación.....	10
1.2.2. Sistemas generadores de los componentes horizontal y vertical del movimiento sacádico.....	12
1.2.3. Papel de la formación reticular del mesencéfalo.....	15
Codificación de los movimientos sacádicos.....	15
Conexiones aferentes y eferentes relacionadas con el movimiento sacádico.....	20
Hipótesis sobre el papel de la formación reticular del mesencéfalo en la generación del movimiento sacádico.....	24
1.3. Papel del techo óptico y la formación reticular del mesencéfalo en la generación de los movimientos de orientación en aves, reptiles y anfibios	26
1.4. Sistema generador de movimientos oculares sacádicos en peces.....	29
1.4.1. Papel del colículo superior.....	29
Representaciones sensoriales.....	29
Codificación de la salida motora.....	30
Aferencias y eferencias tectales.....	32

1.4.2. Sistemas generadores de los movimientos sacádicos en los planos horizontal y vertical.....	34
1.4.3. Papel de la formación reticular del mesencéfalo en la codificación de los movimientos sacádicos y del cuerpo.....	37
<u>2. PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS.....</u>	40
<u>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</u>	45
3.1. Animales de experimentación.....	46
3.2. Procedimientos quirúrgicos.....	47
3.3. Estudios electrofisiológicos.....	49
3.3.1. Registro de movimientos oculares.....	49
3.3.2. Microestimulación eléctrica utilizada en el registro de los movimientos oculares.....	50
3.3.3. Histología.....	53
3.3.4. Análisis de los datos.....	53
3.4. Estudios anatómicos.....	55
3.4.1. Inyección iontoforética del marcador biotina dextrano amina.....	55
3.4.2. Fijación y procesado del material.....	56
3.4.3. Análisis de los resultados.....	59

<u>4. RESULTADOS</u>	60
4.1. Estudio de la conectividad tectoreticular.....	61
4.1.1. Localización e identificación funcional de los sitios de inyección.....	61
4.1.2. Conectividad recíproca entre el techo óptico y la formación reticular.....	63
4.1.3. Conectividad topográfica entre el techo óptico y la formación reticular del mesencéfalo.....	70
4.1.4. Diferencias cuantitativas en la conectividad del techo óptico con el rombencéfalo dependiendo del sitio de inyección.....	70
4.2. Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo	74
4.2.1. Localización de los sitios de microestimulación.....	74
4.2.2. Movimientos oculares producidos por la estimulación de la formación reticular del mesencéfalo: Características generales.....	74
4.2.3. Influencia del sitio de estimulación sobre la dirección del movimiento sacádico.....	78
4.2.4. Tipos de movimientos oculares sacádicos.....	82
Movimientos oculares verticales puros.....	82
Movimientos oculares horizontales puros.....	84
Movimientos oculares oblicuos.....	87
Movimientos oculares convergentes.....	92
Movimientos oculares dirigidos a una meta.....	96
4.2.5. Efecto de los parámetros de estimulación sobre las características del movimiento.....	98

4.2.6. Comparación entre movimientos oculares espontáneos y producidos eléctricamente.....	102
4.3. Estudio de la conectividad de la formación reticular del mesencéfalo con el techo óptico.....	104
4.3.1. Localización e identificación funcional de los sitios de inyección.....	104
4.3.2. Trayectoria axonal.....	107
4.3.3. Distribución de las neuronas y botones marcados en las capas tectales.....	109
4.3.4. Análisis cuantitativo de los botones y neuronas tectales relativo al sitio de inyección.....	113
<u>5. DISCUSIÓN</u>	120
5.1. Estudio de la conectividad tectoreticular	121
5.1.1. Consideraciones generales.....	121
Consideraciones relativas a la técnica.....	122
5.1.2. Patrón general de conectividad del techo óptico con la formación reticular en vertebrados.....	123
5.1.3. Sustrato anatómico para un circuito de retroalimentación tectoreticular.....	124
5.1.4. Sustrato anatómico para la decodificación cartesiana de la señal vectorial del techo óptico.....	125
5.1.5. Conectividad de las áreas tectales anteromedial y posteromedial con el rombencéfalo: Implicaciones funcionales.....	127
5.2. Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo	129
5.2.1. Consideraciones generales.....	129

Consideraciones relativas a la técnica.....	129
Implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de movimientos oculares homolaterales y contralaterales.....	131
Implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de movimientos oculares disyuntivos o monoculares.....	132
5.2.2. Influencia del sitio de estimulación en la formación reticular del mesencéfalo sobre la dirección del vector del movimiento sacádico.....	133
5.2.3. Movimientos oculares verticales y horizontales puros: Hipótesis sobre la descodificación de la señal tectal en componentes cartesianos horizontales y verticales.....	134
5.2.4. Movimientos oculares oblicuos: Hipótesis sobre la integración o relevo de la señal tectal.....	138
5.2.5. Movimientos oculares de convergencia: Hipótesis para la localización de un centro rector de vergencias.....	139
5.2.6. Movimientos oculares dirigidos a una meta: Hipótesis sobre un posible mecanismo de retroalimentación.....	140
5.2.7. Efectos de los parámetros de estimulación sobre las características métricas y cinéticas de los movimientos oculares.....	142
5.2.8. Algunos aspectos evolutivos sobre la implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de los movimientos oculares.....	143
5.3. Estudio de la conectividad entre la formación reticular del mesencéfalo y el techo óptico.....	145
5.3.1. Consideraciones generales.....	145

Consideraciones técnicas.....	146
5.3.2. Trayectoria axonal.....	147
5.3.3. Distribución de las neuronas y botones marcados en las capas tectales.....	148
5.3.4. Localización de botones y neuronas en el techo óptico según el sitio de inyección: Posibles implicaciones funcionales.....	150
<u>6. CONCLUSIONES.</u>	152
<u>7. BIBLIOGRAFÍA.</u>	157

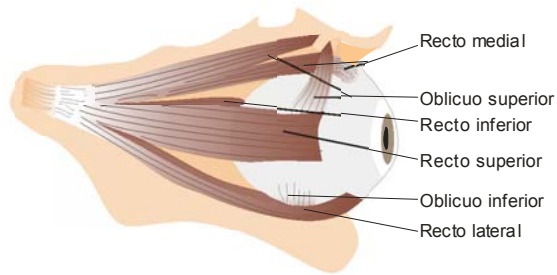
1. INTRODUCCIÓN

1.1. El sistema motor ocular de los vertebrados: Consideraciones generales.

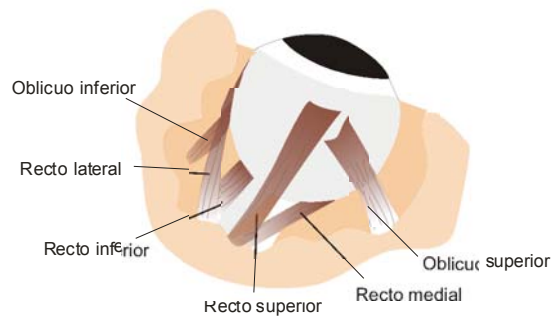
Con el fin de explorar el mundo que nos rodea, el cerebro del hombre y de otros animales genera movimientos de los ojos, cabeza, tronco y extremidades superiores e inferiores. Estos movimientos permiten adquirir al sistema nervioso central información del mundo exterior y procesarla con el fin de generar respuestas o conductas. Pero ¿qué mecanismos biológicos permiten llevar a cabo estos procesos? Para dar respuesta a preguntas como ésta, se han estudiado los circuitos neuronales que permiten la generación de los movimientos oculares. Estos estudios han utilizado al sistema motor ocular bien como modelo de integración sensoriomotora, bien como modelo de control del sistema motor (Raphan y Cohen, 2002; Sparks, 2002). Entre las ventajas del sistema motor ocular están que se pueden caracterizar con detalle las entradas sensoriales que generan los movimientos y se puede medir con precisión la salida motora, el movimiento de los ojos. Además, la localización de las neuronas implicadas en el control de estos movimientos también ha facilitado su estudio desde diversas aproximaciones experimentales (Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002). La función del movimiento ocular es proyectar la imagen de un blanco sensorial sobre la zona de la retina donde hay una mayor agudeza visual, denominada fovea o área central de la retina, según la especie (Glimcher, 2003a).

El sistema motor ocular aparece pronto en la evolución de los vertebrados (Beck y col., 2004; Land, 1999; Walls, 1962). Así, el sistema de músculos extraoculares tiene características similares en especies de vertebrados tan alejadas filogenéticamente como mamíferos y peces (Fig. 1.1A, B). Por otro lado, los peces y

A



B



C

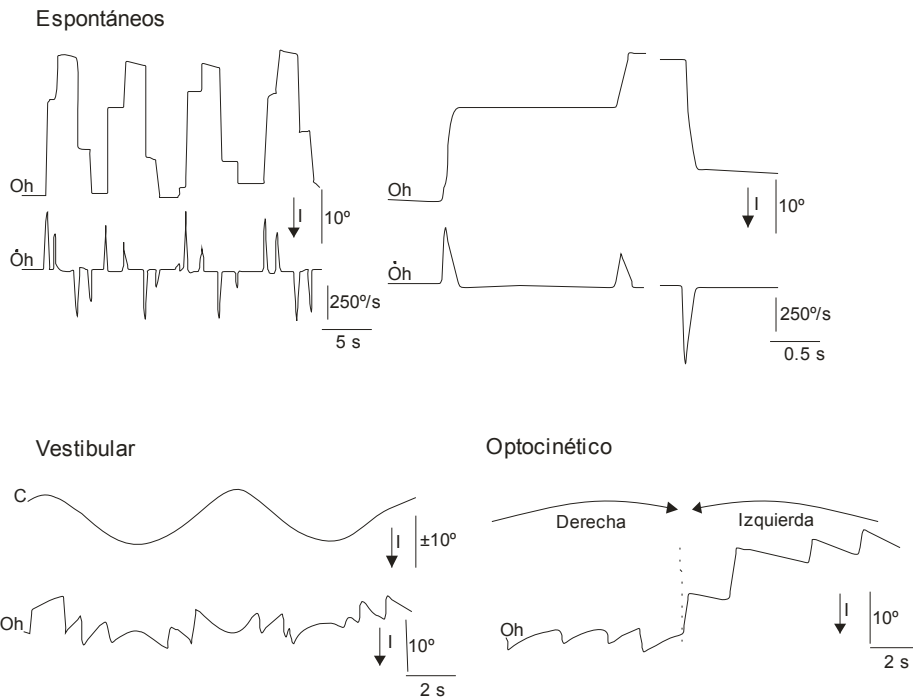


Figura 1.1. Musculatura extraocular y movimientos oculares en vertebrados. **A, B.** Ilustraciones mostrando la musculatura extraocular en humanos (A) y en la carpa dorada (B) desde una visión dorsal del ojo. Modificado de Seely y col. (1998), Cabrera (1991), respectivamente. **C.** Movimientos oculares espontáneos e inducidos por estimulación vestibular y visual (optocinético) registrados en la carpa dorada. Modificado de Salas y col. (1999). Abreviaturas: C, cabeza; I, izquierda; Oh, posición del ojo en el plano horizontal; Oh, velocidad del movimiento ocular en su plano horizontal. Calibraciones como se indican.

los mamíferos muestran los mismos tipos de movimientos oculares (Beck y col., 2004; Easter, 1971; Glimcher, 2003a; Keng y Anastasio, 1997; Salas y col., 1999). Los tipos de movimientos oculares (Fig. 1.1C) se diferencian según la fuente sensorial que los genera, sus características cinéticas y el circuito neuronal implicado.

Movimiento ocular rápido o sacádico: Este movimiento ocular, de gran velocidad y de corta duración, es inducido por estímulos novedosos que aparecen en el campo visual. También se genera de forma voluntaria o forma parte de los reflejos vestibuloocular y optocinético.

Movimiento vestibuloocular: Este movimiento permite fijar la imagen de un objeto sobre la fóvea durante los desplazamientos de la cabeza.

Movimiento ocular optocinético: Este movimiento permite fijar la imagen de un objeto sobre la fóvea mientras se desplaza el campo visual completo.

Movimientos oculares de vergencia: Son aquellos movimientos que generan convergencia o divergencia de los globos oculares para mantener la visión binocular.

Movimiento ocular de seguimiento: Es aquel movimiento ocular que desplaza el ojo con la misma cinética que el estímulo sensorial.

Los movimientos de orientación visual se producen cuando un estímulo sensorial saliente irrumpe en el entorno de un animal, y están destinados a proyectar la imagen de dicho estímulo sobre la fóvea (Glimcher, 2003b). Estas respuestas implican el movimiento de los ojos (sacádico), cabeza y/o cuerpo hacia la zona del campo visual donde aparece el estímulo (Fig. 1.2). La contribución del movimiento del ojo, cabeza y/o cuerpo varía según el rango oculomotor de cada especie (Ewert,

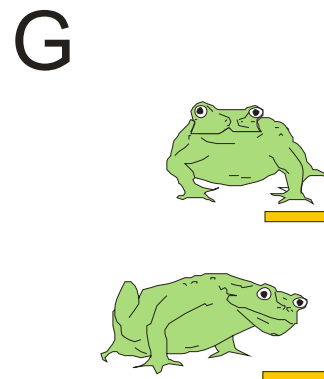
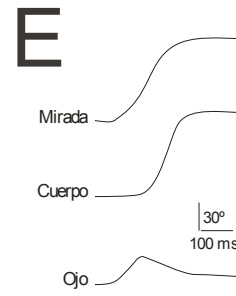
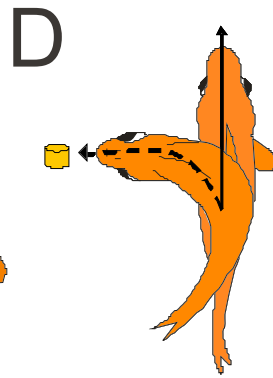
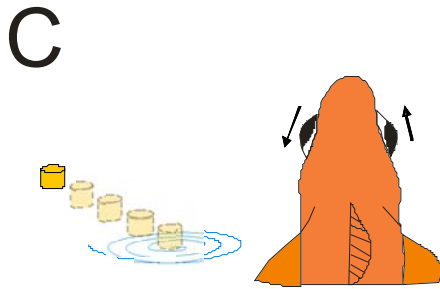
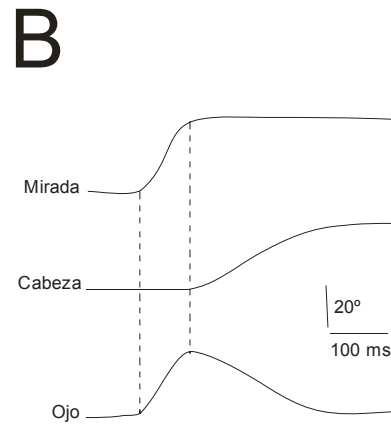
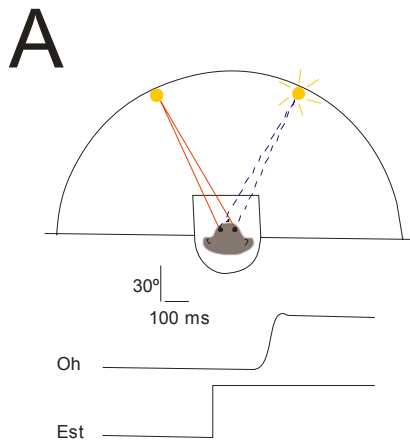


Figura 1.2. Características de los movimientos de orientación en diferentes especies de vertebrados. **A.** Registro de los movimientos oculares de orientación de mamíferos. Obsérvese que el movimiento registrado se corresponde con la orientación de los ojos desde la línea de mirada roja a la azul, debido a la aparición de un estímulo novedoso. El curso temporal del estímulo (Est) y del movimiento del ojo en el plano horizontal (Oh) se muestran en la parte inferior. Modificado de Jay y Sparks (1984). **B.** Curso temporal del movimiento de orientación en monos. Obsérvese que tras el estímulo comienza a moverse el ojo (primera línea punteada), más tarde se inicia el movimiento de la cabeza, provocando que el ojo se desplace hacia el centro de la órbita (segunda línea punteada). La mirada se corresponde con la suma del registro de la cabeza y el ojo. Modificado de Guitton (1992). **C, D, E.** Esquemas mostrando que la aparición de un estímulo visual produce inicialmente movimiento de los ojos (C) seguido por el desplazamiento del cuerpo (D) en la carpa dorada. Además, se muestra el curso temporal de estas respuestas de orientación (E). Modificado de Luque y col. (2005). **F.** Fotografía mostrando que la respuesta de orientación en lechuzas implica el desplazamiento exclusivo de la cabeza. **G.** Esquema indicando que la respuesta de orientación en anfibios implica sólo el desplazamiento del cuerpo hacia el estímulo. Modificado de Ewert (1984). Calibraciones en A, B y E como se indican.

1984; Guitton, 1992; Luque y col., 2005; Masino, 1992). En especies con amplio rango oculomotor, la orientación visual se inicia por un movimiento ocular sacádico y se continúa con un desplazamiento más lento de la cabeza y/o cuerpo, mientras que el ojo vuelve al centro de la órbita. Estas son las características biomecánicas de las respuestas tanto en primates (Fig. 1.2A, B) como en ciprínidos (Fig. 1.2C-E). Por otro lado, en especies con escaso o nulo rango oculomotor los movimientos de orientación son realizados por desplazamientos de la cabeza (Fig. 1.2F) o del cuerpo (Fig. 1.2G).

Este trabajo está incluido en una línea de investigación destinada a estudiar el circuito neuronal que produce los movimientos de orientación desde una perspectiva comparada. En particular, este trabajo estudia el papel de la formación reticular del mesencéfalo en la generación del movimiento ocular sacádico de orientación en la carpa dorada (*Carassius auratus*). Por esta razón, en la introducción se revisará en primer lugar el circuito que permite la generación del movimiento sacádico de orientación en mamíferos. Se describirá el papel del colículo superior en la generación del sacádico de orientación, así como la fisiología de los centros generadores de los componentes horizontal y vertical del movimiento ocular. Se revisará también la información disponible sobre la formación reticular mesencéfala y las propuestas actuales sobre el papel de esta estructura en la generación del movimiento ocular sacádico. A continuación, se resumirán los conocimientos actuales sobre los movimientos de orientación en otras clases de vertebrados, reservando una sección final de la introducción con el mismo fin para peces.

1.2. Sistema generador del movimiento ocular sacádico en mamíferos.

1.2.1. Papel del colículo superior.

Representaciones sensoriales.

Numerosos estudios coinciden en señalar al colículo superior como una estructura esencial en las transformaciones sensoriomotoras que permiten la generación de los movimientos de orientación (Hall y Moschovakis, 2004; Stein, 1998). El colículo superior de los mamíferos recibe información sensorial visual, somatotópica y auditiva. Las neuronas de las capas superficiales del colículo responden ante estímulos localizados en una porción del campo visual homolateral y todo el campo visual contralateral (Sparks y Nelson, 1987). La información visual está organizada retinotópicamente en el colículo (Fig. 1.3A). Así, estímulos que aparecen en los campos visuales superior e inferior activan a células situadas medial y lateralmente en el colículo, mientras que cuanto más excéntrico aparece un estímulo visual en el plano horizontal más caudales se sitúan las neuronas coliculares que se activan. Además, este mapa retinotópico no es homogéneo ya que el área que ocupa la representación del campo visual frontal es mayor que la de un área equivalente en el campo de visión periférica. Por otro lado, las células de las capas intermedias del colículo reciben información somatosensorial (Fig. 1.3B) y auditiva. Estas señales se representan como mapas sensoriales alineados con el visual (Wallace y Stein, 1996). Además, algunas neuronas responden a más de un estímulo (Wallace y Stein, 1997). La utilidad de la alineación de estas representaciones sensoriales es que, independientemente de su modalidad, pueden iniciar movimientos de orientación según la zona del campo sensorial donde aparece el estímulo (Stein, 1998).

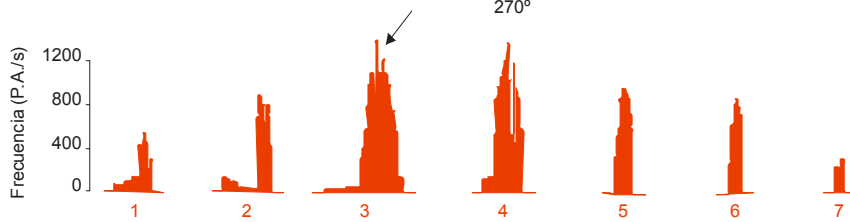
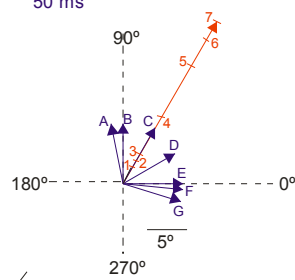
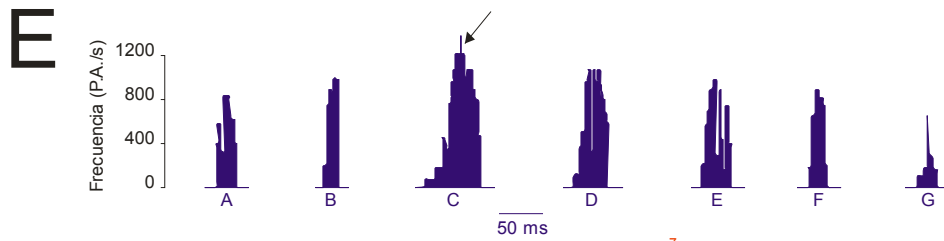
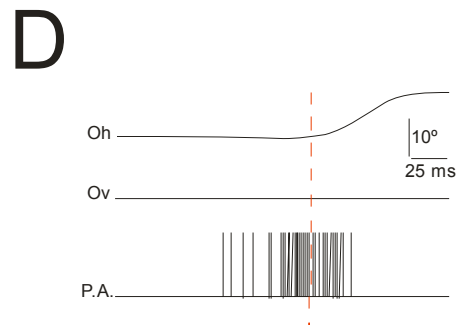
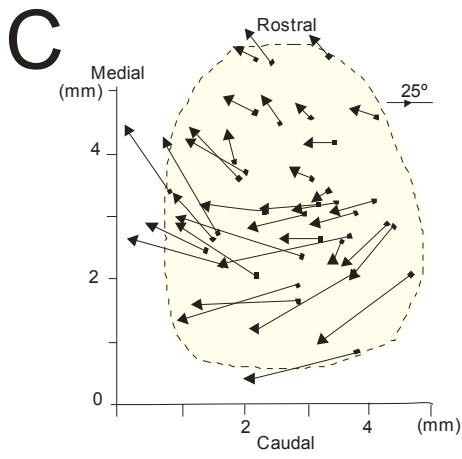
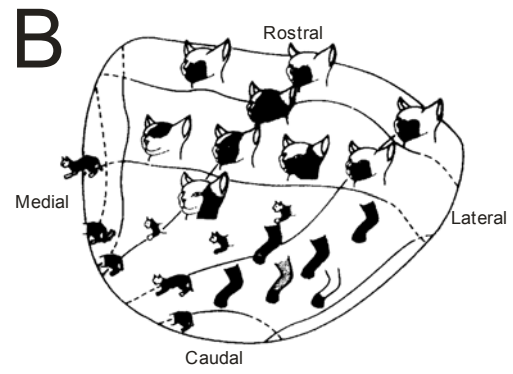
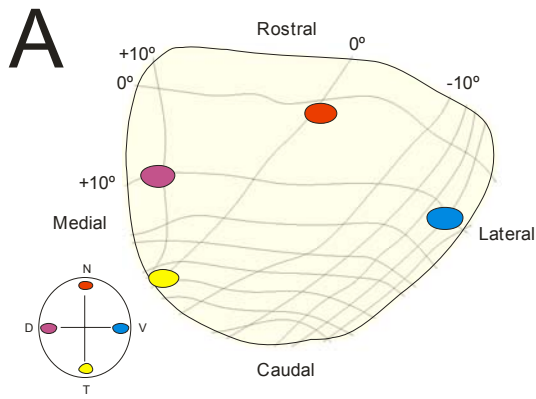


Figura 1.3. Características sensoriales y motoras del colículo superior de mamíferos. **A.** Representación del mapa visual en el colículo superior. Obsérvese como estímulos que aparecen en las zonas dorsal (D), ventral (V), nasal (N) o temporal (T) del hemicampo visual contralateral activan a sitios coliculares situados en las porciones medial, lateral, rostral o caudal, respectivamente. Modificado de Pérez-Pérez (2001). **B.** Representación somatotópica colicular. Modificado de Hartline (1984). **C.** Mapa colicular de movimientos oculares. Obsérvese como desde la zona medial o lateral del colículo se producen movimientos oculares dirigidos hacia arriba o abajo. Además, el movimiento ocular incrementa su amplitud horizontal con el eje anteroposterior. Modificado de Sparks y Nelson (1987). **D.** Brote de potenciales de acción (P.A.) registrado en una neurona colicular que precede a un movimiento ocular en el plano horizontal (Oh), sin componente en el plano vertical (Ov). Modificado de Sparks y Jay (1986). **E.** Representación de la frecuencia de disparo de una neurona colicular en función de la dirección y amplitud del movimiento ocular. En azul se representa la frecuencia de disparo de la neurona frente a movimientos de diferente dirección e igual amplitud; en rojo se representa la frecuencia de actividad frente a movimientos de la misma dirección y diferente amplitud. Obsérvese que la mayor frecuencia de actividad (flechas negras) se obtiene para una dirección y amplitud determinada. Modificado de Sparks y Mays (1980). Calibraciones en C, D y E como se indican.

Codificación de la salida motora.

Mediante estudios de estimulación eléctrica del colículo superior en monos y gatos se ha propuesto que esta estructura codifica la dirección y amplitud de los movimientos oculares sacádicos dependiendo del sitio que esté activo (Guitton y col., 1980; Robinson, 1972). Así, la estimulación de sitios en la región medial o lateral del colículo produce movimientos oculares sacádicos dirigidos hacia arriba o abajo, mientras que la activación de sitios en las zonas rostral o caudal genera movimientos de pequeña o gran amplitud (Fig. 1.3C). Estos datos sugieren un mapa motor en el colículo cuya disposición se alinea con la de los mapas sensoriales (Schiller y Stryker, 1972; Stein, 1998), y apoyan la hipótesis de que las transformaciones sensoriomotoras realizadas en el colículo se fundamentan en un flujo de información columnar desde las capas superficiales, sensoriales, a las profundas, motoras (Grantyn y col., 2004). Este flujo permitiría realizar los movimientos de orientación hacia la zona del espacio donde aparecen los estímulos salientes (Stein, 1998). La hipótesis de la codificación del movimiento en el colículo superior en términos cartográficos o espaciales, propuesta inicialmente mediante técnicas de estimulación, es congruente con los resultados obtenidos mediante registro extracelular de neuronas en las capas intermedias y profundas del colículo (Sparks y Mays, 1980). Así, se han encontrado neuronas cuya actividad está relacionada con el movimiento sacádico que, dependiendo de su posición en el colículo, muestran una frecuencia de disparo mayor para una dirección y amplitud determinada (Fig. 1.3D, E).

Si en el colículo se codifica el movimiento sacádico en términos espaciales, y las motoneuronas extraoculares lo hacen según su patrón temporal de disparo (Delgado-García y col., 1986; Fuchs y col., 1988), debe haber entre ambas estructuras una descodificación “espacio-temporal”. La hipótesis actual sugiere que esta descodificación de la señal colicular se realiza en un sistema de ejes cartesianos en estructuras del mesencéfalo y rombencéfalo. Así, diferentes poblaciones de neuronas estarían implicadas en la generación de los componentes vertical y horizontal del movimiento ocular (Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002; Sparks y Mays, 1990).

Aferencias y eferencias motoras: Importancia de los sistemas de retroalimentación.

Además de las aferencias sensoriales señaladas anteriormente, el colículo superior recibe señales de estructuras relacionadas con el movimiento sacádico y, a su vez, las envía a diversas regiones relacionadas con la generación y control de estos movimientos (Munoz y Schall, 2004; Sparks y Hartwich-Young, 1989; Voogd y col., 1998). Del patrón de conexiones se puede sugerir que: 1) hay dos vías paralelas para generar los movimientos sacádicos, una de origen cortical y la otra colicular (Fig. 1.4A). Sin embargo, estudios de lesión sugieren que el colículo superior media el control realizado por las regiones corticales (Hanes y Wurtz, 2001); 2) el colículo superior es un centro de convergencia de comandos motores sacádicos que proceden de áreas corticales y subcorticales (Munoz y Schall, 2004); 3) el colículo proyecta, al menos indirectamente, a todas las áreas premotoras del tronco del encéfalo implicadas en la generación de los componentes horizontal y

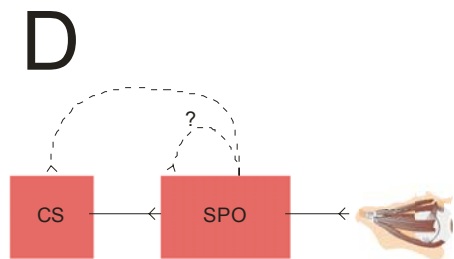
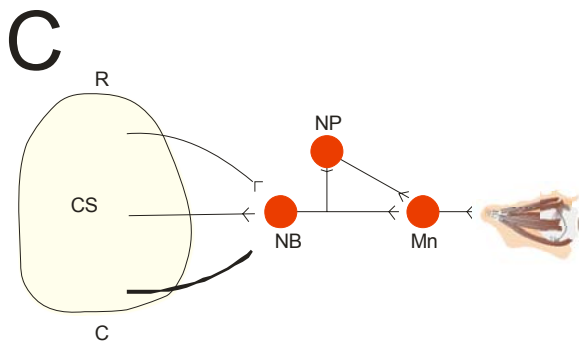
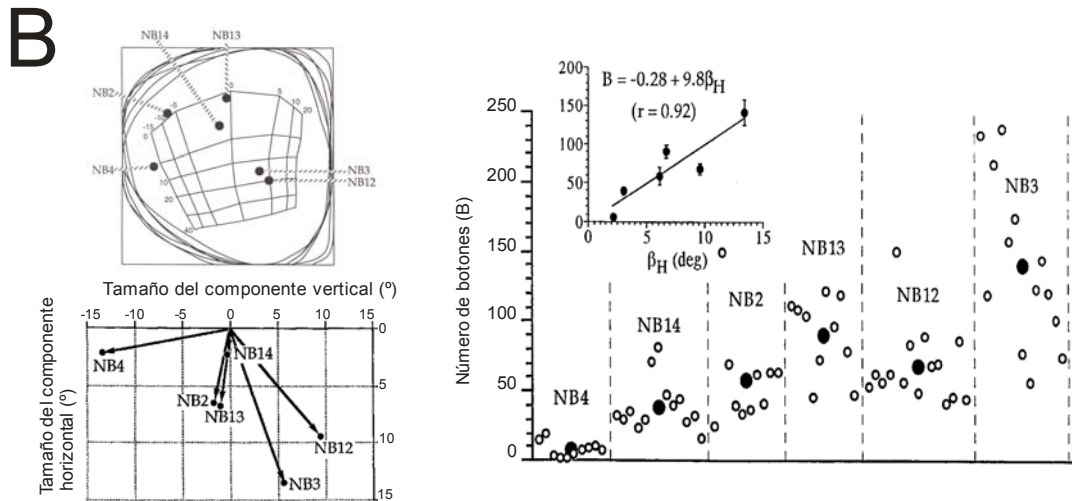
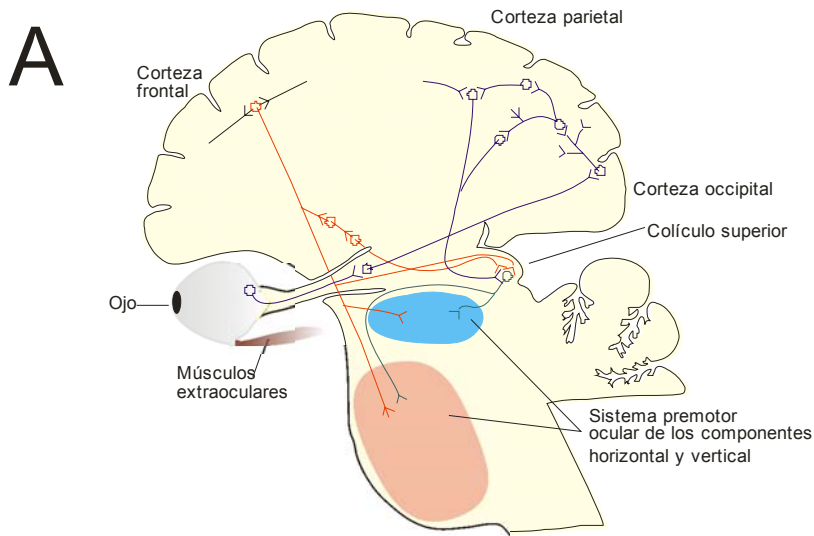


Figura 1.4. Conectividad del colículo superior con las áreas premotoras oculares. **A.** Ilustración mostrando las entradas colicular y cortical a los centros generadores de los componentes horizontal y vertical del movimiento ocular. El gráfico también muestra la conectividad de la retina implicada en la generación de estos movimientos. Modificado de Hopp y Fuchs (2004). **B.** En la parte izquierda se muestran los sitios de inyección sobre el mapa retinotópico del colículo superior y los movimientos oculares obtenidos por estimulación eléctrica en cada uno de esos puntos. En la parte derecha se muestra un gráfico con el número de botones encontrados en la formación reticular pontina paramediana. Los puntos blancos representan los botones encontrados en cada sección de 75 μm , mientras que los negros indican el total para cada animal. Modificado de Moschovakis y col. (1998). **C.** Esquema representando (por el grosor de la línea) que la proyección desde la región rostral (R) del colículo superior (CS) a las neuronas de brote (NB) es menos intensa que desde la región caudal (C). El gráfico muestra, además, como la señal de velocidad que generan las neuronas de brote se envía a las neuronas de posición (NP), donde se integra. Ambas señales se envían a las motoneuronas extraoculares (Mn). Modificado de Fuchs y col. (1985) **D.** Esquema representando los posibles circuitos de retroalimentación que existen en el sistema generador de los movimientos oculares. Este circuito de retroalimentación permite ajustar la amplitud del movimiento sacádico realizado al deseado, y algunos autores incluyen al colículo superior, mientras que otros lo restringen al mismo sistema premotor ocular (SPO). Modificado de Waitzman y col. (2000a).

vertical del movimiento ocular (Büttner-Ennever y Horn, 1997); 4) el colículo codifica la dirección (Grantyn y col., 1997) y amplitud (Moschovakis y col., 1998) del movimiento en base, al menos en parte, a su conectividad (Fig. 1.4B, C); y 5) el colículo recibe información desde los centros premotores que podrían modular su actividad mediante sistemas de retroalimentación (Fig. 1.4D; Chen y May, 2000; Guitton y col., 2003; Soetedjo y col., 2002).

1.2.2. Sistemas generadores de los componentes horizontal y vertical del movimiento sacádico.

Los comandos para los componentes horizontal y vertical del movimiento sacádico se originan en diferentes regiones del tronco del encéfalo (Fig. 1.5A). Así, el comando del componente horizontal se produce en neuronas premotoras localizadas en la protuberancia y el bulbo raquídeo, mientras que las neuronas premotoras de la región rostral del mesencéfalo controlan el componente vertical del movimiento (Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002).

Las neuronas de la formación reticular de la protuberancia y el bulbo raquídeo, así como de los núcleos vestibulares y prepositus hipoglossi, están relacionadas específicamente con la generación del componente horizontal de los movimientos sacádicos (Scudder y col., 2002; Sparks, 2002). La microestimulación de estas zonas produce movimientos sacádicos horizontales, mientras que su inactivación produce alteración en el componente horizontal pero no en el componente vertical de los movimientos sacádicos (Cohen y Komatsuzaki, 1972; Goebel y col., 1971).

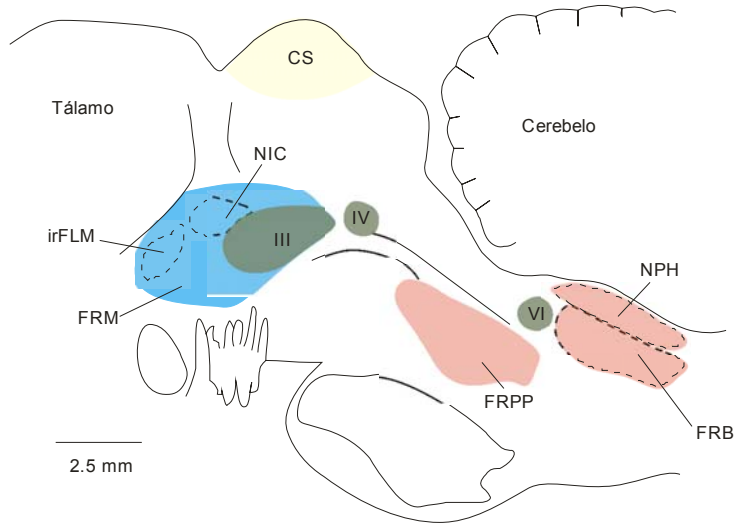
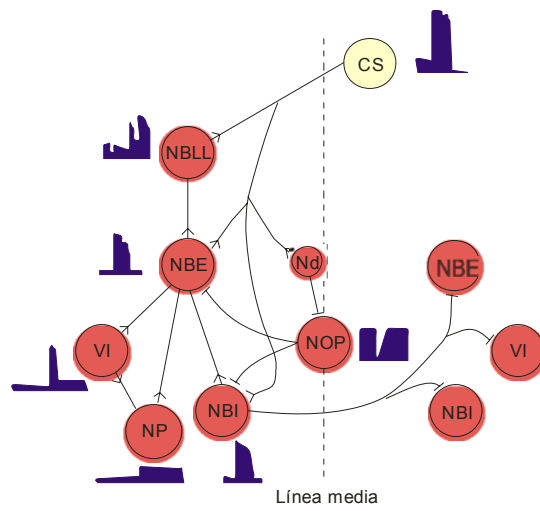
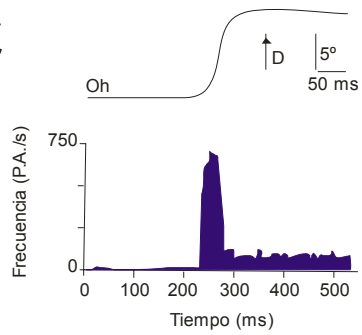
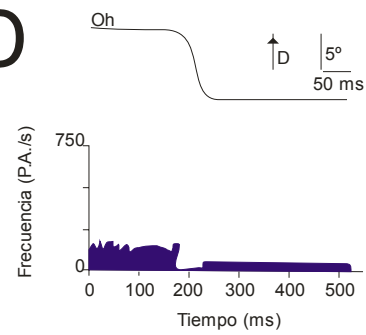
A**B****C****D**

Figura 1.5. Localización y fisiología de los centros implicados en la generación de los movimientos oculares. **A.** Visión sagital del cerebro de mamíferos mostrando la localización de las áreas implicadas en la generación de movimientos oculares verticales y horizontales. Modificado de Sparks (2002). **B.** Esquema indicando las conexiones entre las neuronas implicadas en el circuito de generación de los movimientos oculares horizontales, así como la frecuencia de disparo de cada una de estas neuronas. Modificado de Sparks (2002). **C, D.** Frecuencia de disparo de una motoneurona situada en el núcleo motor ocular externo relacionada con movimientos oculares horizontales dirigidos hacia la derecha. Modificado de Sparks (2002). Abreviaturas: CS, colículo superior; D, derecha; FRB, formación reticular bulbar; FRM, formación reticular del mesencéfalo; FRPP, formación reticular pontina paramediana; III, núcleo oculomotor; irFLM, núcleo intersticial rostral del fascículo longitudinal medial; IV, núcleo troclear; NBE, neurona de brote excitador; NBI, neurona de brote inhibitor; NBLL, neurona de brote de larga latencia; Nd, neurona de disparo; NIC, núcleo intersticial de Cajal; NOP, neurona omnipausa; NP, neurona de posición; NPH, núcleo del prepositus hipoglossi; Oh, posición del componente horizontal del ojo; P.A., potenciales de acción; VI, núcleo motor ocular externo. Calibraciones en A, C y D como se indican.

Estudios de registro extracelular han mostrado varios tipos de neuronas cuyos patrones de actividad están relacionados con los movimientos sacádicos horizontales (Fig. 1.5B; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002). Las neuronas omnipausa producen potenciales de acción a una frecuencia relativamente constante durante la fijación ocular, pero se inactivan durante los movimientos sacádicos realizados en cualquier dirección. Las neuronas de brote excitador (de larga y corta latencia) generan brotes de actividad de alta frecuencia antes de los movimientos sacádicos homolaterales. Estas neuronas hacen contactos monosinápticos excitatorios con las motoneuronas y las neuronas internucleares del núcleo motor ocular externo homolateral. La entrada desde las neuronas de brote facilita que las neuronas del núcleo motor ocular externo produzcan una actividad fásica relacionada con la amplitud y velocidad del sacádico en la dirección de activación (Fig. 1.5C; Delgado-García y col., 1986; Fuchs y col., 1988). Las neuronas de brote inhibitor se activan para inhibir a las poblaciones de neuronas del núcleo motor ocular externo contralateral, de tal manera que las motoneuronas de dicho núcleo se inactivan durante sacádicos contralaterales (Fig. 1.5D; Delgado-García y col., 1986; Fuchs y col., 1988). La actividad tónica de muchas neuronas de los núcleos prepositus hipoglossi y vestibular medial es proporcional a la posición del componente horizontal del ojo. Estas células generan la excitación requerida por las neuronas del núcleo motor ocular externo homolateral para que puedan mantener un disparo tónico proporcional a la posición ocular en la dirección de activación (Fig. 1.5C, D; Cheron y Godaux, 1987; Delgado-García y col., 1986, 1989; Fuchs y col., 1988).

Las neuronas premotoras de la región rostral del mesencéfalo producen los comandos fásicos y tónicos relacionados con los movimientos sacádicos en el plano vertical (Dalezios y col., 1998; Fukushima y col., 1992; Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002). Las neuronas del núcleo intersticial rostral del fascículo longitudinal medial generan un brote de actividad de alta frecuencia antes de movimientos sacádicos verticales y llevan esta señal monosinápticamente a las motoneuronas. Las neuronas de los núcleos intersticial de Cajal y vestibular descargan tónicamente a frecuencias que están relacionadas linealmente con la posición vertical del ojo (Fukushima y col., 1992). Ambos tipos de señal, de brote y tónico, permiten a las motoneuronas extraoculares de los pares III y IV generar los movimientos y las fijaciones oculares en el plano vertical. Aunque los componentes verticales y horizontales son generados en diferentes regiones del tronco del encéfalo, ambos están coordinados para evitar que los movimientos oblicuos sean curvados.

1.2.3. Papel de la formación reticular del mesencéfalo.

Codificación de los movimientos sacádicos.

Desde finales de los años setenta e inicios de los ochenta se conoce que la formación reticular del mesencéfalo de los mamíferos está implicada en el control de los movimientos oculares sacádicos (Cohen y col., 1985, 1986; King y Fuchs, 1979). Sin embargo, los estudios destinados a determinar el papel de esta estructura en la generación de estos movimientos son escasos y realizados exclusivamente en monos. Esto contrasta con la abundante información disponible tanto de monos como de gatos para el colículo superior y centros premotores relacionados con el

movimiento sacádico (Hall y Moschovakis, 2004; Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002).

En monos, una zona de la formación reticular del mesencéfalo, denominada central, se ha implicado en la generación de los movimientos sacádicos (Cohen y Büttner-Ennever, 1984; Cohen y col., 1985). Los límites citoarquitectónicos de esta zona no están nítidamente definidos (Chen y May, 2000), aunque se acepta que se localiza lateral a los núcleos oculomotor, intersticial del fascículo longitudinal medial y de Cajal, y a la sustancia gris periacueductal (Fig. 1.6A).

El estudio funcional de la formación reticular del mesencéfalo se ha realizado con técnicas de estimulación eléctrica (Cohen y col., 1985, 1986; Waitzman y col., 2002), inactivación reversible (Waitzman y col., 2000a, b) y registro extracelular (Cromer y col., 2004; Handel y Glimcher, 1997; King y Fuchs, 1979; Scudder y col., 1996a; Waitzman y col., 1996). Estos estudios sugieren la existencia de diferentes regiones funcionales dentro de esta área.

La microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica produce movimientos sacádicos que se dirigen hacia el lado contralateral con respecto al sitio estimulado y sus características dependen del sitio activado en el eje dorsoventral (Cohen y col., 1985, 1986). Así, la activación de sitios localizados dorsalmente produce movimientos sacádicos de pequeño tamaño, e independientes de la posición inicial del ojo en la órbita (Fig. 1.6B). Además, trenes de estimulación de larga duración en esta zona producen las denominadas “escaleras de sacádicos”

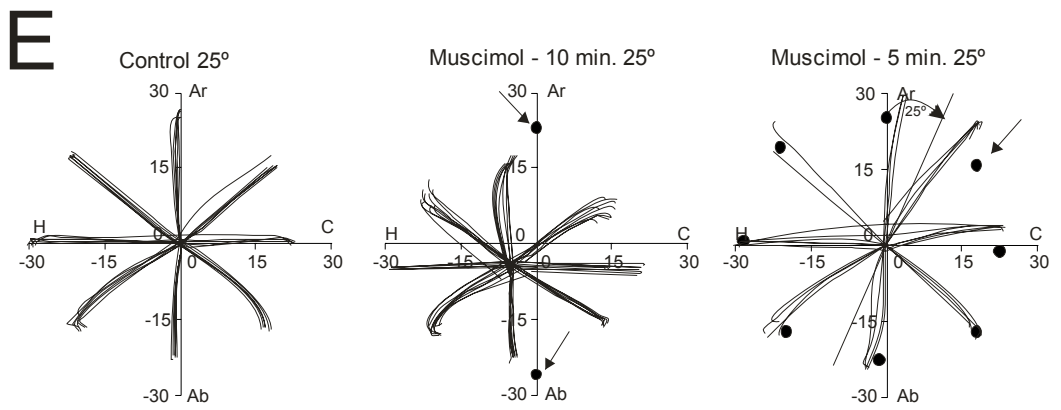
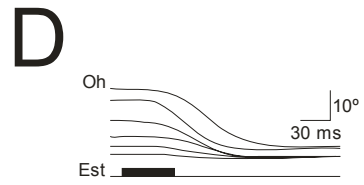
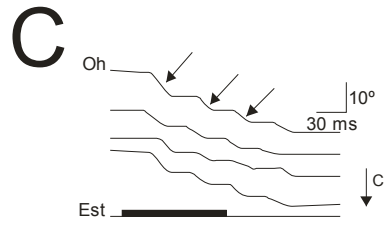
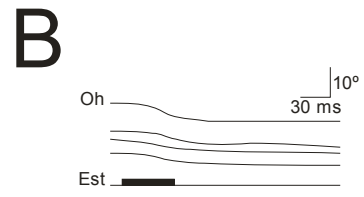
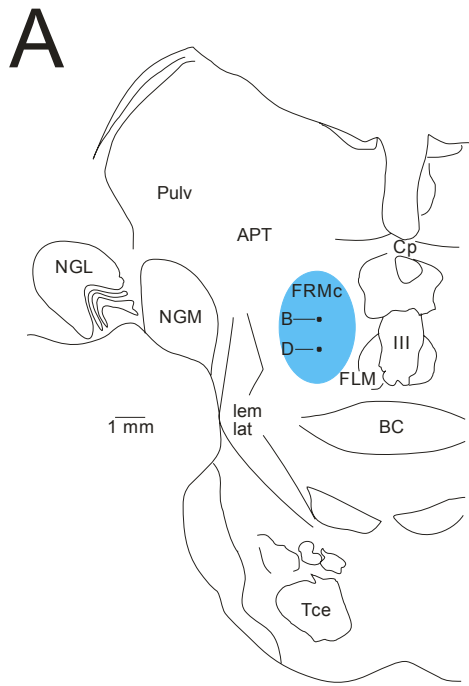


Figura 1.6. Localización y fisiología de la formación reticular mesencefálica central (FRMc) en monos. **A.** Esquema mostrando la localización de la formación reticular mesencefálica central. Modificado de Cohen y col. (1985) **B-D.** Curso temporal de los movimientos oculares producidos desde los sitios de estimulación mostrados en A. En C se ilustra una escalera de movimientos sacádicos (flechas) producidos desde el punto señalado como B con trenes de estímulos de larga duración. Modificado de Cohen y col. (1985). **E.** Efecto de la inactivación con muscimol de la formación reticular mesencefálica. A la izquierda se representan las trayectorias de los movimientos oculares obtenidos en una situación control. En el centro se muestran los efectos sobre la amplitud de los movimientos cuando se inactiva con muscimol la formación reticular mesencefálica rostral (se observa hipometría de los movimientos oculares verticales, señalada con una flecha). A la derecha se muestra los efectos sobre la amplitud de los movimientos cuando se inactiva con muscimol la formación reticular mesencefálica caudal (se observa hipermetría de los movimientos oculares horizontales y oblicuos, señalada con una flecha). Modificado de Waitzman y col. (2000a, b). Abreviaturas en A: APT, área pretecal; BC, decusación del brachium conjunctivum; Cp, comisura posterior; FLM, fascículo longitudinal medial; III, núcleo oculomotor; lem lat, lemnisco lateral; NGL, núcleo geniculado lateral; NGM, núcleo geniculado medial; Pulv, pulvinar; Tce, tracto corticoespinal. Abreviaturas en B-E: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh, posición del componente horizontal del ojo. Calibraciones como se indican.

(Fig. 1.6C). Por otro lado, la estimulación eléctrica de zonas ventrales produce movimientos sacádicos de gran amplitud y dependientes de la posición inicial del ojo en la órbita (Fig. 1.6D). Un estudio más reciente usando esta técnica ha mostrado que las porciones más ventrales y caudales de la formación reticular del mesencéfalo generan movimientos dirigidos a una meta y de centrado del ojo en la órbita (Waitzman y col., 2002).

Estudios de inactivación reversible, usando muscimol (agonista de los receptores GABA_A), de la formación reticular también sugieren la presencia de zonas funcionales (Waitzman y col., 2000a, b). Así, la inactivación de la región rostral provoca que los movimientos sacádicos inducidos visualmente sean hipométricos en su componente vertical, mientras que la inactivación de la porción caudal produce que los movimientos sacádicos oblicuos contralaterales inducidos visualmente sean hipermétricos (Fig. 1.6E).

El registro de la actividad celular también sugiere la presencia de diferentes regiones funcionales en la formación reticular mesencefálica (Fig. 1.7). En la región rostral se localizan neuronas cuyo patrón de disparo se relaciona con los movimientos sacádicos verticales puros (Fig. 1.7A, B; King y Fuchs, 1979; Scudder y col., 1996a). En la región caudal se localizan neuronas cuyo brote de actividad se relaciona con movimientos sacádicos horizontales contralaterales (Fig. 1.7A, C; Waitzman y col., 1996). En la porción medial predomina la presencia de neuronas cuya actividad se relaciona con movimientos sacádicos oblicuos (Fig. 1.7A, D;

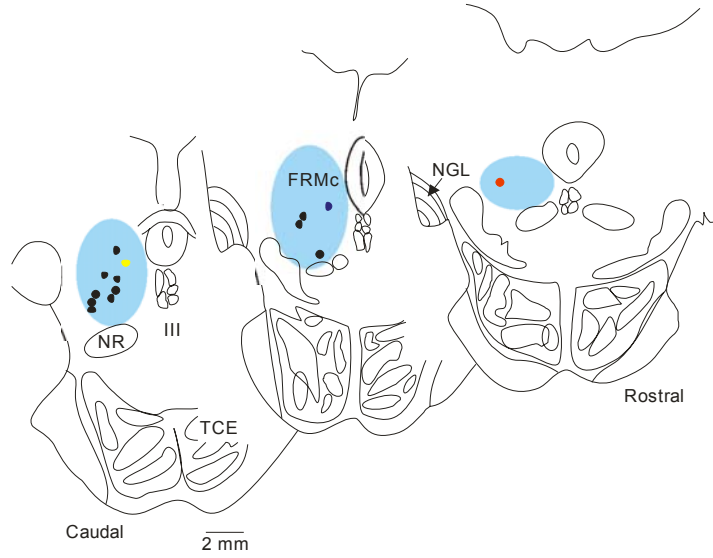
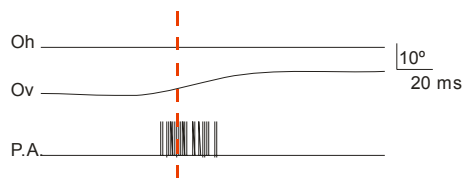
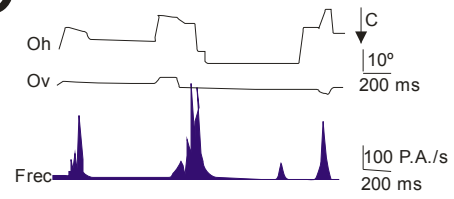
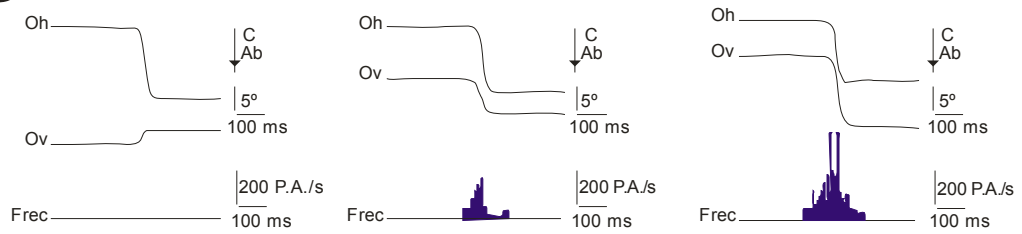
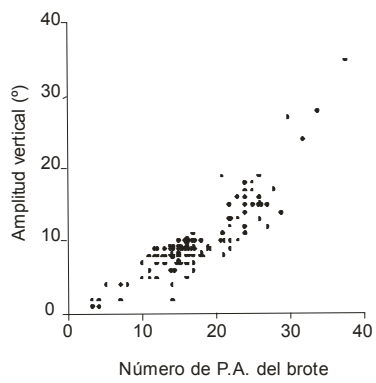
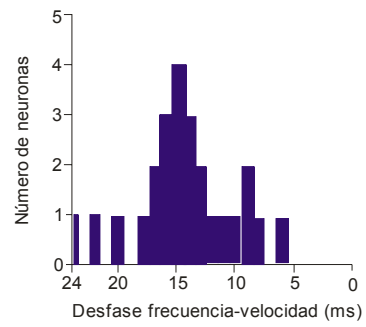
A**B****C****D****E****F**

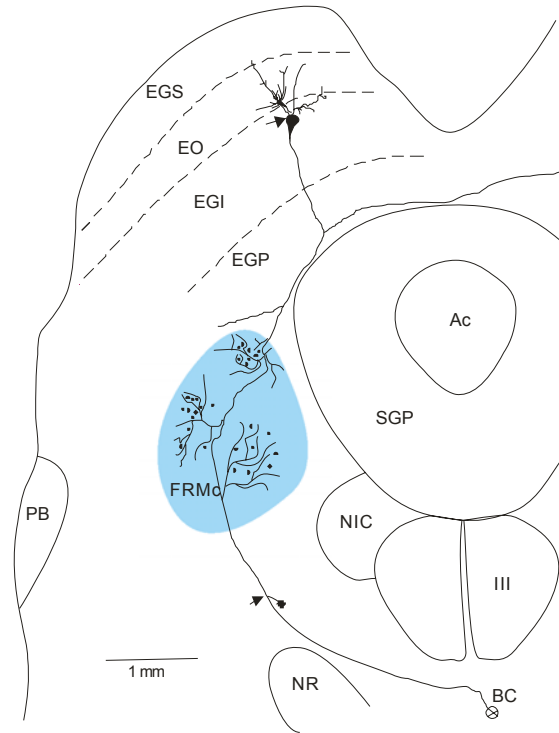
Figura 1.7. Actividad de neuronas de la formación reticular del mesencéfalo central (FRMc) en monos relacionadas con el movimiento ocular. **A.** Esquemas de secciones coronales mostrando la localización de las neuronas registradas y mostradas en los apartados B-D. Modificado de Waitzman y col. (1996). **B.** Brote de actividad una neurona situada a nivel rostral del FRMc (punto rojo en A) relacionada con un movimiento ocular vertical (Ov) puro (línea roja discontinua). Modificado de King y Fuchs (1979). **C.** Frecuencia de disparo (Frec) de una neurona localizada a nivel caudal de FRMc (punto amarillo en A) cuya actividad se relaciona con movimientos oculares horizontales (Oh) puros. Neuronas con este perfil de disparo se localizan en los niveles medial y caudal de FRMc (puntos negros en A). Modificado de Waitzman y col. (1996). **D.** Frecuencia de disparo de una neurona localizada a nivel medial del FRMc (punto azul en A) cuya actividad preferente se relaciona con movimientos oblicuos de aproximadamente 45°. Modificado de Handel y Glimcher (1997). **E.** Relación entre la amplitud del componente vertical del movimiento sacádico y el número de potenciales de acción (P.A.) del brote. Modificado de King y Fuchs (1979). **F.** Representación del desfase entre el pico de frecuencia de neuronas del FRMc y la velocidad máxima del movimiento. Obsérvese que las neuronas tienden a sincronizar su frecuencia máxima en relación al movimiento. Modificado de Waitzman y col. (1996). Abreviaturas: Ab, abajo; C, contralateral; III, núcleo oculomotor; NGL, núcleo geniculado lateral; NR, núcleo rojo; TCE, tracto corticoespinal. Calibraciones como se indican.

Handel y Glimcher, 1997). Por último, estudios de las características del brote de actividad con respecto a la amplitud, velocidad y latencia del movimiento sugieren que estos tres aspectos podrían estar codificados en el patrón de descarga de las neuronas reticulares (Fig. 1.7E, F; Cromer y col., 2004; King y Fuchs, 1979; Waitzman y col., 1996).

Conexiones aferentes y eferentes relacionadas con el movimiento sacádico.

Estudios de marcaje intraxonar demuestran que neuronas coliculares, cuya actividad precede al movimiento sacádico, proyectan ampliamente a la formación reticular mesencefálica (Fig. 1.8A), tanto en monos (Moschovakis y col., 1988) como en gatos (Grantyn y Grantyn, 1982). El axón principal de estas neuronas, además de conectar a través de colaterales con la formación reticular del mesencéfalo, continúa hasta alcanzar finalmente la región de la protuberancia y el bulbo raquídeo (Grantyn y col., 2004; Moschovakis y col., 1988; Scudder y col., 1996b). Por otro lado, las neuronas de la formación reticular del mesencéfalo proyectan hasta el colículo superior (Moschovakis y col., 1988). Los campos terminales de esta proyección se localizan principalmente en las capas intermedias y profundas del colículo superior homolateral (Fig. 1.8B). Además, dichos campos siguen un patrón de distribución en el colículo que depende de las propiedades funcionales de la neurona reticular, de tal modo que si la neurona tiene una actividad principalmente relacionada con movimientos verticales hacia arriba, proyecta de forma prioritaria a la zona medial del colículo.

A



B

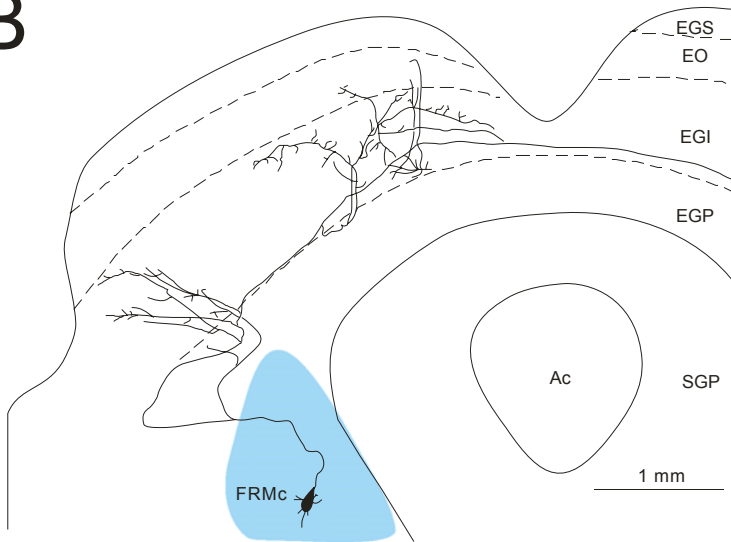
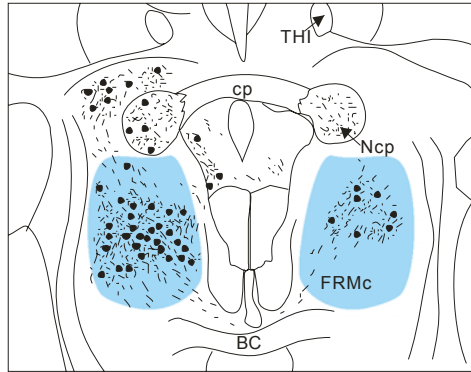


Figura 1.8. Conectividad recíproca entre el colículo superior y la formación reticular mesencefálica central (FRMc) observada mediante inyección intraxonal. **A.** Reconstrucción de una neurona tectal cuya actividad precede al movimiento ocular con larga latencia y que proyecta a la formación reticular mesencefálica (el patrón de arborización terminal se ha idealizado). Modificado de Moschovakis y col. (1988). **B.** Reconstrucción de una neurona de la formación reticular mesencefálica que proyecta tanto al colículo superior homolateral como contralateral. Modificado de Moschovakis y col. (1988). Abreviaturas: Ac, acueducto; BC, brachium conjunctivum; EGI, estrato gris intermedio; EGS, estrato gris superficial; EGP, estrato gris profundo; EO, estrato óptico; III, núcleo oculomotor; NIC, núcleo intersticial de Cajal; NR, núcleo rojo; PB, núcleo parabigeminal; SGP, sustancia gris periacueductal.

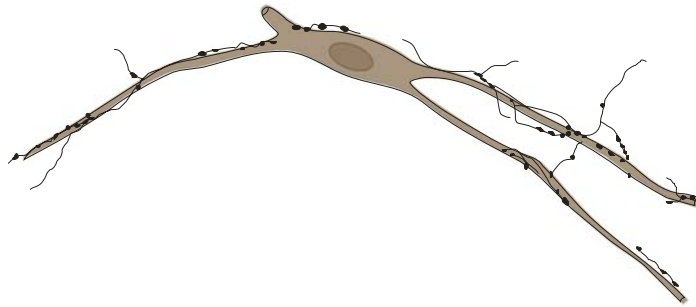
La conexión tectoreticular se ha descrito en diversas especies de mamíferos incluyendo monos (Chen y May, 2000; Cohen y Büttner-Ennever, 1984; Cohen y col., 1986; Harting, 1977; Moschovakis y col., 1988; Scudder y col., 1996a), gatos (Cowie y Holstege, 1992; Gerlach y Thier, 1995; Graham, 1977; Grantyn y Grantyn, 1982), y roedores (Jiang y col., 1997; Redgrave y col., 1986, 1988). En un estudio reciente, utilizando el trazador bidireccional biotina dextrano amina, se han confirmado las conexiones recíprocas entre el colículo superior y la formación reticular del mesencéfalo (Chen y May, 2000). Además, se ha observado que la zona de máxima densidad de terminaciones tectoreticulares solapa con aquella que contiene las neuronas reticulotectales (Fig. 1.9A), y que algunas de estas neuronas muestran terminales próximos a su soma y dendritas principales (Fig. 1.9B). Estos datos se han tomado como evidencia para sugerir que entre ambas estructuras se establecen lazos de retroalimentación, tanto a nivel regional como neuronal.

Estudios de inyección intraxonal de las neuronas coliculares muestran que el axón principal se proyecta hasta alcanzar la región de la protuberancia y el bulbo raquídeo, aunque algunas de sus colaterales terminan en la formación reticular del mesencéfalo. Estos resultados contrastan, aparentemente, con otros de doble marcaje retrógrado (Bickford y Hall, 1989; Jiang y col., 1997; Redgrave y col., 1987). Estos estudios muestran que las poblaciones de células coliculares que proyectan al mesencéfalo y rombencéfalo están separadas, ya que sólo una proporción pequeña (alrededor del 5%) está doblemente marcada.

A



B



C

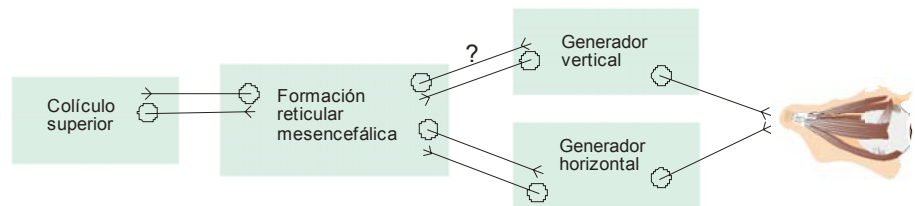


Figura 1.9. Conectividad recíproca entre el colículo superior, la formación reticular mesencefálica central (FRMc), y los sistemas premotores oculares que generan los componentes vertical y horizontal. **A.** Esquema de una sección coronal en la que se muestra la distribución de neuronas marcadas (puntos) y de terminales tras una inyección de biotina dextrano amina (BDA) en el colículo superior de monos. Obsérvese el solapamiento entre las neuronas marcadas y los terminales coliculares a nivel de la formación reticular mesencefálica central. Modificado de Chen y May (2000). **B.** Esquema de una neurona de la formación reticular mesencefálica central marcada retrógradamente desde el colículo superior. Obsérvese la presencia de un axón marcado anterogradamente desde el colículo superior, cuyos terminales contactan con la neurona. Modificado de Chen y May (2000). **C.** Esquema mostrando los circuitos de retroalimentación probables entre la formación reticular mesencefálica, el colículo superior y los centros generadores de los componentes vertical y horizontal del movimiento ocular. La conexión de la formación reticular mesencefálica con el generador vertical aún no ha sido demostrada. Abreviaturas: BC, brachium conjunctivum; cp, comisura posterior; Ncp, núcleo de la comisura posterior; THI, tracto habenulo-interpeduncular.

Por último, estudios de inyección intraxonal muestran la presencia de neuronas de la formación reticular del mesencéfalo que proyectan a las áreas premotoras relacionadas con la generación de los componentes vertical y horizontal del movimiento ocular (Scudder y col., 1996a). Estos datos son congruentes con los obtenidos por marcaje retrógrado, confirmando que la formación reticular del mesencéfalo es una fuente de entrada para ambos generadores del movimiento ocular. Más aún, como en el caso de la conexión con el colículo, las conexiones entre la formación reticular del mesencéfalo y los generadores mencionados son recíprocas (Büttner-Ennever y Büttner, 1988). Estas conexiones (Fig. 1.9C) podrían soportar tanto la hipótesis de que la formación reticular del mesencéfalo puede ser una vía de relevo tectal para alcanzar los generadores del movimiento ocular (Büttner-Ennever y col., 2002; Waitzman y col., 1996, 2000a, b), como la presencia de circuitos de retroalimentación que controlan el movimiento ocular (Chen y May, 2000; Moschovakis y col., 1988; Waitzman y col., 2000a, b).

Hipótesis sobre el papel de la formación reticular del mesencéfalo en la generación del movimiento sacádico.

De acuerdo a los estudios funcionales y anatómicos de la formación reticular mesencefálica, se han formulado varias hipótesis sobre el papel que esta estructura podría llevar a cabo en la generación del movimiento ocular en mamíferos:

Como estructura de relevo podría participar en:

- 1) la decodificación de la señal colicular en un sistema de coordenadas cartesianas, extrayendo los componentes vertical y horizontal de la señal

colicular para enviarla a los generadores premotores oculares del movimiento sacádico. Esta hipótesis se basa en la regionalización funcional de la formación reticular del mesencéfalo.

2) la codificación de la amplitud y velocidad del movimiento sacádico.

3) la iniciación del movimiento ocular.

Como estructura de conexión recíproca con el colículo superior y con los centros premotores vertical y horizontal del movimiento ocular, podría participar en los circuitos de retroalimentación que controlan el movimiento ocular.

1.3. Papel del techo óptico y la formación reticular del mesencéfalo en la generación de los movimientos de orientación en aves, reptiles y anfibios.

Los estudios destinados a conocer las bases fisiológicas de las respuestas de orientación son muy escasos en aves, reptiles y anfibios (Du Lac y Knudsen, 1990; Ewert, 1984; Ewert y col., 2001; Hyde y Knudsen, 2002; Knudsen y Brainard, 1995; Kostyk y Grobstein, 1987; Masino, 1992; Roche King y Comer, 1996). Aún así, se conoce que la estimulación eléctrica del techo óptico produce movimientos de la cabeza en aves (Du Lac y Knudsen, 1990; Masino, 1992) y/o del cuerpo en reptiles (Stein y Gaither, 1981) o anfibios (Ewert, 1984; Ewert y col., 2001) que se asemejan a los naturales de orientación. Los movimientos producidos por estimulación reflejan un mapa motor tectal alineado con los sensoriales (Fig. 1.10A). En aves y anfibios, además se ha encontrado que la ablación de un techo óptico suprime la respuesta de orientación a estímulos que aparecen en el campo visual contralateral (Fig. 1.10B; Hyde y Knudsen, 2002; Kostyk y Grobstein, 1987).

Como en mamíferos, la formación reticular mesencefálica en aves, reptiles y anfibios es una zona tectoreceptora (Dicke, 1999; Hunt y Brecha, 1984; Masino y Knudsen, 1992; Sereno, 1985; Sereno y Ulinski, 1985). Estudios de estimulación de esta región en aves (Masino, 1992; Masino y Knudsen, 1990, 1993) sugieren su participación en la descodificación de la señal tectal en un sistema de coordenadas cartesianas para el movimiento de la cabeza (Fig. 1.10C). Por otro lado, estudios de lesión que afectan en parte a la formación reticular del mesencéfalo, pero también al tracto tectobulbar, indican que esta estructura podría estar implicada en la respuesta de giro corporal de orientación en anfibios (Kostyk y Grobstein, 1987). Finalmente, la

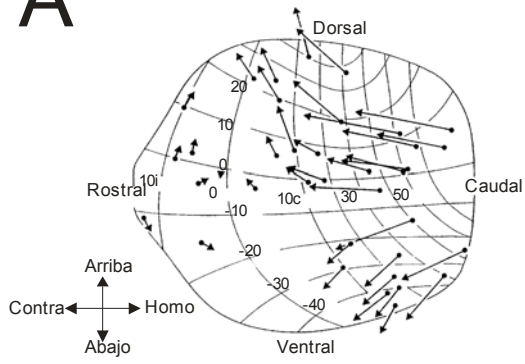
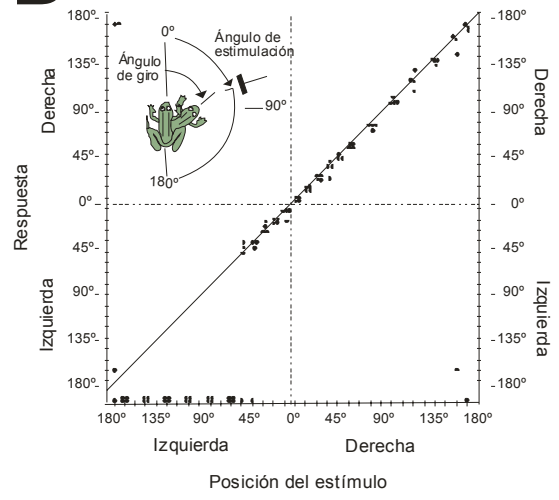
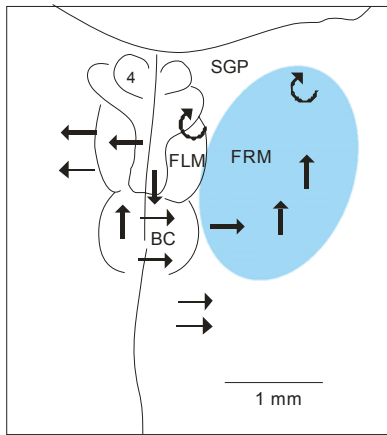
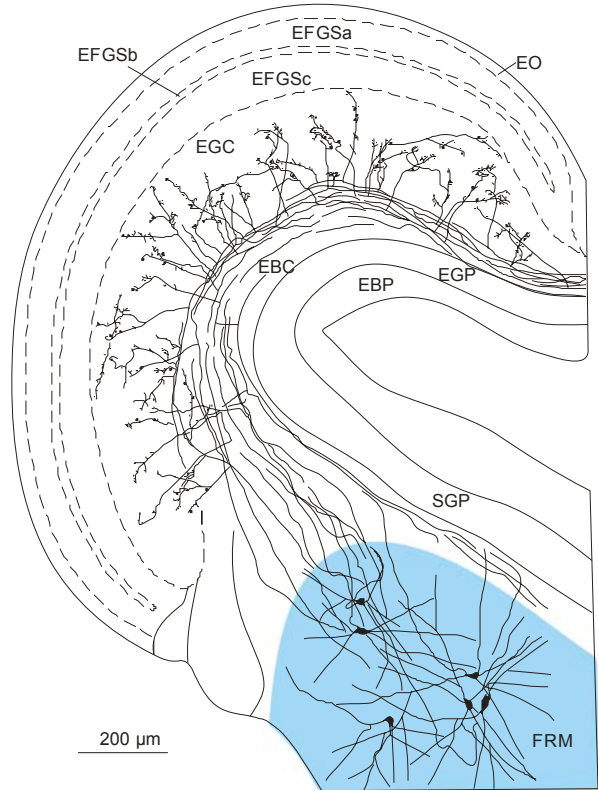
A**B****C****D**

Figura 1.10. Papel del techo óptico y conectividad tectoreticular en vertebrados. **A.** Representación del techo óptico derecho de aves mostrando los vectores de movimiento de la cabeza, según el sitio tectal estimulado. Modificado de Du Lac y Knudsen (1990). **B.** Representación del movimiento corporal en anfibios tras la ablación del lóbulo tectal derecho en respuesta a la aparición de estímulos en el campo visual. Modificado de Kostyk y Grobstein (1987). En la parte superior izquierda se muestra un pequeño esquema de la respuesta del animal. Modificado de Roche King y Comer (1996). **C.** Reconstrucción de una sección coronal a nivel de la formación reticular mesencefálica (FRM) indicando los tipos de movimientos de la cabeza que se pueden producir desde distintos sitios en aves. Modificado de Masino y Knudsen (1993). **D.** Reconstrucción de una sección coronal mostrando las aferencias tectales desde la formación reticular mesencefálica en reptiles. La zona coloreada se corresponde con la formación reticular del mesencéfalo (FRM). Modificado de Dacey y Ulinski (1986). Abreviaturas: BC, decusación del brachium conjunctivum; EBC, estrato blanco central; EBP, estrato blanco periventricular; EFGSa, estrato fibroso y gris superficial sublámina a; EFGSb, estrato fibroso y gris superficial sublámina b; EFGSc, estrato fibroso y gris superficial sublámina c; EGC, estrato gris central; EGP, estrato gris periventricular; EO, estrato óptico; FLM, fascículo longitudinal medial; SGP, sustancia gris periacueductal. Calibraciones como se indican.

formación reticular del mesencéfalo está conectada como vía de paso de la señal tectal con otros centros premotores (Masino y Grobstein, 1989; Masino y Knudsen, 1992) y además establece conexiones recíprocas con el techo óptico (Fig. 1.10D; Dacey y Ulinski, 1986; Landwehr y Dicke, 2004).

1.4. Sistema generador de movimientos oculares sacádicos en peces.

1.4.1. Papel del colículo superior.

Representaciones sensoriales.

La representación del campo visual en el techo óptico de la carpa dorada mantiene características semejantes a las descritas en otras especies de vertebrados, pero también notables diferencias específicas. En la carpa dorada, como en el conjunto de especies de vertebrados, hay un mapa visual cuya ordenación es retinotópica. Sin embargo, en la carpa dorada la entrada desde la retina es casi completamente cruzada, sólo una pequeña porción del campo visual homolateral está también representado en la región anteromedial del techo óptico. Además, la representación del “área central” de la retina está pobremente detallada en el techo, los ojos están situados en posición lateral en la cabeza y el campo visual del animal ocupa aproximadamente 280° , siendo el área de solapamiento binocular de alrededor de 45° (Jacobson y Gaze, 1964; Schwassmann, 1968; Schwassmann y Kruger, 1965).

En relación a la recepción tectal de otras modalidades sensoriales, la información es aún más escasa. Diversos autores describen neuronas multimodales que se activan por señales visuotáctiles o visuoacústicas y neuronas que son sensibles a entradas de la línea lateral (Callens y col., 1967; O'Benar, 1976). Además, en peces eléctricos se describen mapas electroreceptivos en correspondencia con el visual (Bastian, 1982; Bleckmann y Zelick, 1993).

Codificación de la salida motora.

La estimulación eléctrica del techo de los peces produce movimientos de los ojos y del cuerpo (Al-Akel y col., 1986; Demski, 1982, 1983; Demski y Bauer, 1975; Herrero, 1997; Herrero y col., 1998b; Meyer y col., 1970; Rodríguez, 1996; Salas y col., 1994, 1997). Los movimientos oculares producidos por la estimulación eléctrica del techo en la carpa dorada inmovilizada dependen en dirección y amplitud del sitio tectal activo (Fig. 1.11A; Herrero, 1997; Salas y col., 1994, 1997). Así, a medida que el estímulo se desplaza en el eje mediolateral, la dirección varía desde dirigirse hacia arriba hasta dirigirse hacia abajo (Fig. 1.11B), y cuando lo hace en el eje anteroposterior aumenta la amplitud del componente horizontal (Fig. 1.11B).

Por otro lado, se ha sugerido la presencia de diferentes áreas funcionales en el techo óptico de la carpa dorada. Estas áreas implicarían distintos movimientos coordinados del ojo y cuerpo (Herrero y col., 1998b) y podrían producir, con diferentes umbrales de sensibilidad, movimientos de orientación, captura de presa y escape (Rodríguez, 1996).

La ablación del techo óptico genera una incapacidad para realizar respuestas de orientación hacia casi todo el campo visual contralateral (Fig. 1.11C; Torres y col., 2005). Sin embargo, la carpa es capaz de hacer giros espontáneos del cuerpo o de exploración hacia esa zona del campo sensorial, así como reconocer estímulos visuales (Davis y Klinger, 1987; Roeser y Baier, 2003; Yager y col., 1977). De hecho, tanto en la carpa dorada como en el pez cebra, se ha demostrado que pueden realizar, después de la ablación de un techo, los reflejos optocinético, optomotor y de

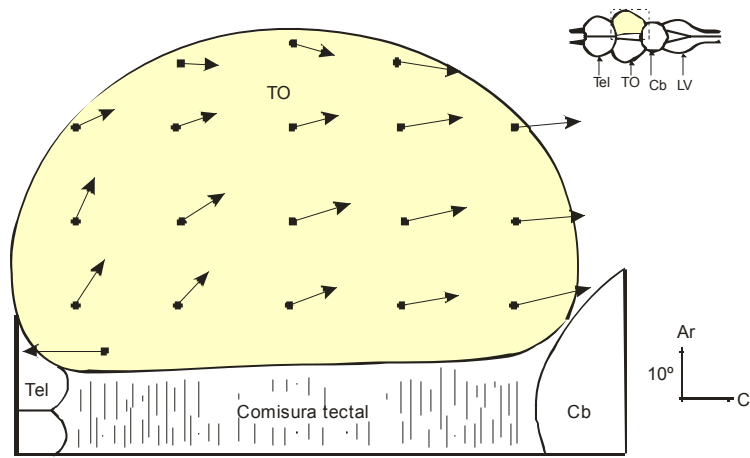
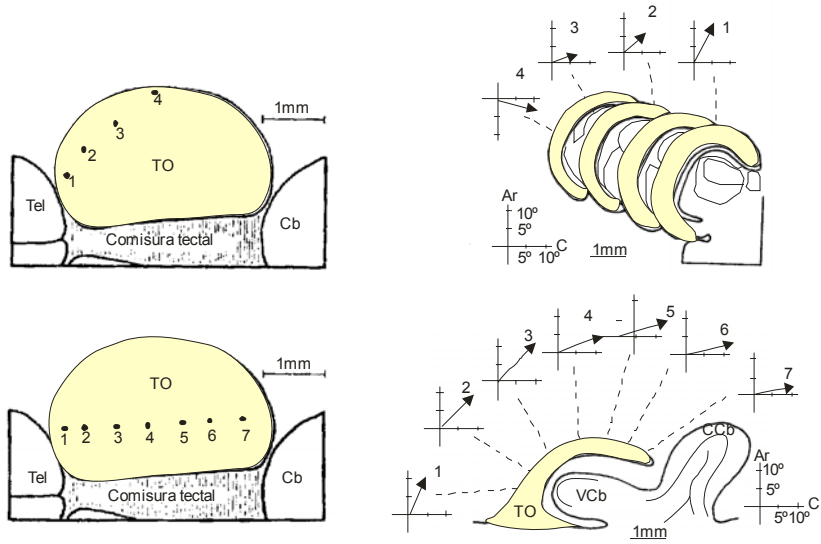
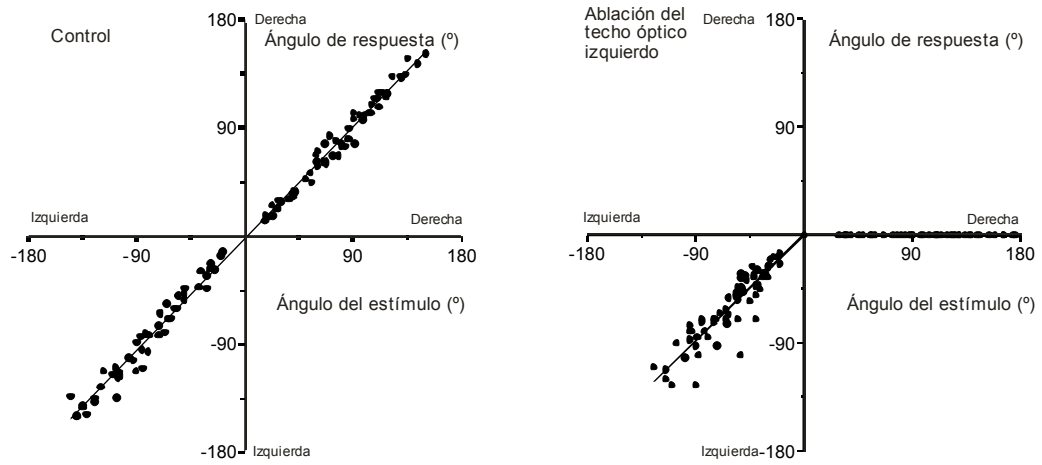
A**B****C**

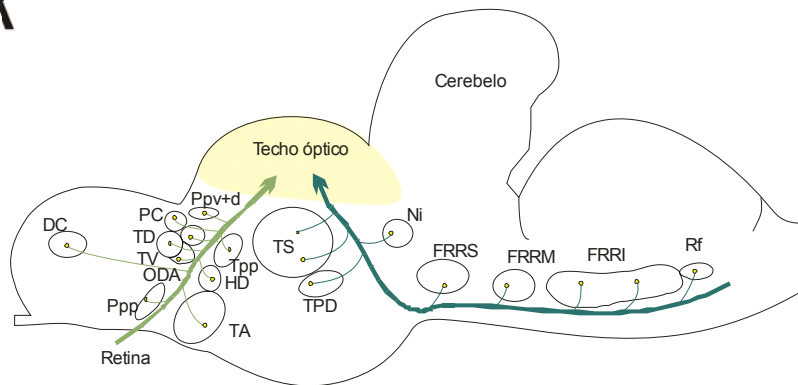
Figura 1.11. Papel del techo óptico en la generación de movimientos sacádicos en la carpa dorada. **A.** Representación del techo óptico (TO) derecho de la carpa dorada mostrando los vectores de movimiento oculares obtenidos tras la estimulación eléctrica de diferentes sitios. Cada vector indica la amplitud y dirección del movimiento obtenido. Modificado de Salas y col. (1997). **B.** En la zona superior izquierda se muestra un esquema del techo óptico indicando cuatro puntos (1-4) situados a lo largo del eje mediolateral. En la parte superior derecha se muestran los cortes coronales a esos niveles con los movimientos inducidos en cada uno de ellos. En la parte inferior izquierda se muestra el esquema del techo óptico indicando 7 puntos situados a lo largo del eje anteroposterior (1-7) y en la parte inferior derecha se muestra una visión sagital del techo óptico mostrando los vectores de movimiento obtenidos en cada uno de los sitios estimulados. Modificado de Salas y col. (1997). **C.** A la izquierda se muestra una representación del ángulo de respuesta en función del ángulo de estimulación para un animal control y a la derecha la misma representación para un animal tras la ablación del techo óptico izquierdo. Modificado de Torres y col. (2005). Abreviaturas: Ar, arriba; C, contralateral; CCb, cuerpo del cerebelo; Cb, cerebelo; LV, lóbulos vagales; Tel, telencéfalo; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

orientación a la luz dorsal, independientemente de la dirección de rotación del estímulo visual (Roeser y Baier, 2003; Springer y col., 1977; Yager y col., 1977). Estos resultados son funcionalmente semejantes a los encontrados en anfibios (Kostyk y Grobstein, 1987; Roche King y Comer, 1996). En conjunto, estos estudios sugieren que en estas clases de vertebrados, el nivel ocupado por el techo óptico en la jerarquía para la generación de los movimientos de orientación es más alto que en mamíferos, donde dos sistemas motores oculares actúan en paralelo. Naturalmente, esto no descarta que tanto desde el palio telencefálico (Jimenez Moya, 2002), como desde niveles pretectales (Mori, 1993; Roeser y Baier, 2003; Springer y col., 1977; Yager y col., 1977) o vestibulares (Beck y col., 2004; Graf y col., 1997; Marsh y Baker, 1997) se puedan generar movimientos oculares sacádicos.

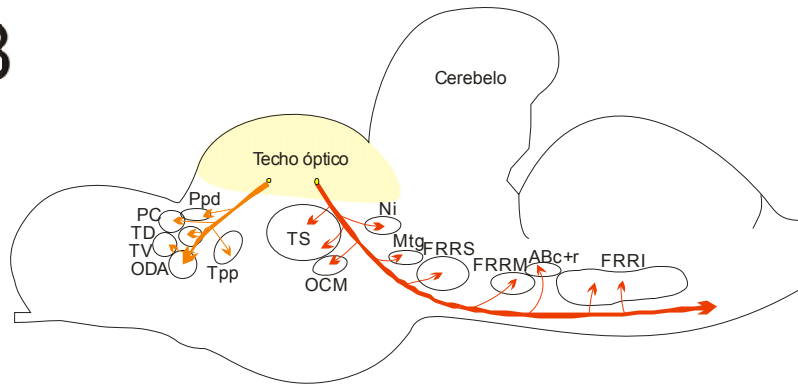
Aferencias y eferencias tectales.

El techo óptico de la carpa dorada, como el de otros peces y el resto de los vertebrados, está conectado por los tractos ascendente, medial y descendente con diferentes estructuras cerebrales (Fig. 1.12A, B; Fiebig y col., 1983; Grover y Sharma, 1979, 1981; Luiten, 1981; Meek y Niewenhuys, 1998; Pérez-Pérez, 2001; Pérez-Pérez y col., 2003a; Schlussman y col., 1990; Striedter, 1990). Trabajos recientes muestran que, independientemente del sitio tectal estudiado en sus conexiones, éstas se localizan en regiones cualitativamente similares (Herrero y col., 1998a, 1999; Pérez-Pérez y col., 2000, 2003b). Sin embargo, el número de neuronas aferentes o de proyecciones eferentes son cuantitativamente distintas dependiendo de cada sitio tectal. Estas diferencias cuantitativas sugieren un modelo de conexiones tectales dependientes de cada sitio (Fig. 1.12C; Herrero y col., 1998a,

A



B



C

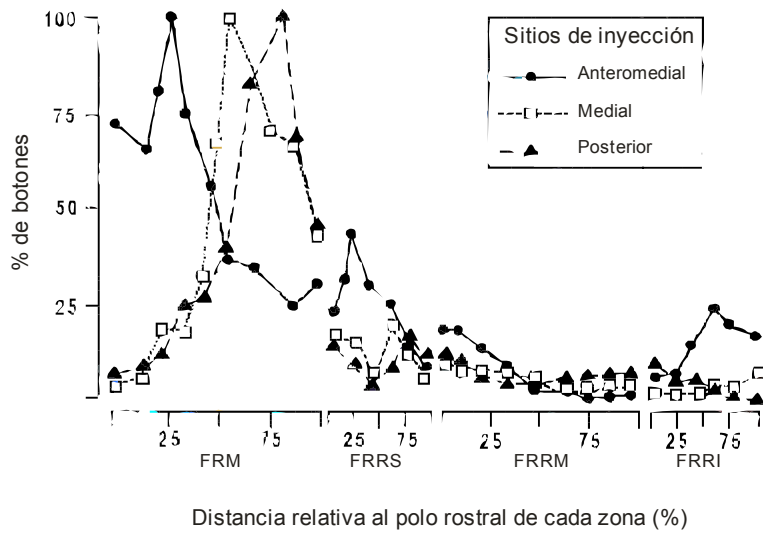


Figura 1.12. Conectividad del techo óptico en la carpa dorada. **A, B.** Visión sagital del cerebro de la carpa dorada mostrando las vías aferentes y eferentes del techo óptico. Modificado de Meek y Nieuwenhuys (1998). **C.** Representación mostrando la distribución de botones a lo largo del eje anteroposterior, en la formación reticular mesencefálica (FRM) y rombencefálica, tras inyecciones en el techo anteromedial, medial y posterior. Modificado de Herrero y col. (1998a). Abreviaturas: ABc+r, núcleo motor ocular externo parte caudal y rostral; DC, núcleo dorsocentral; FRRi, formación reticular rombencefálica inferior; FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRS, formación reticular rombencefálica superior; HD, hipotálamo dorsal; M_{tg}, núcleo motor del nervio trigeminal; Ni, núcleo del istmo; OCM, núcleo oculomotor; ODA, núcleo óptico dorsal accesorio; PC, núcleo pretectal central; Ppp, núcleo preóptico parvocelular posterior; Ppv+d, núcleo pretectal periventricular ventral y dorsal; Rf, núcleo del rafe; TA, núcleo tuberal anterior; TD, tálamo dorsal; TPD, núcleo tegmental posterior dorsal; Tpp, tubérculo periventricular posterior; TS, toro semicircular; TV, tálamo ventral.

1999). Estos resultados son semejantes a los encontrados en mamíferos (Büttner-Ennever y col., 1999; Grantyn y col., 1997; Moschovakis y col., 1998) y aves (Hyde y Knudsen, 2000). En conjunto sugieren que las diferencias funcionales de cada zona tectal implican, al menos en parte, conexiones diferentes.

1.4.2. Sistemas generadores de los movimientos sacádicos en los planos horizontal y vertical.

Las propiedades fisiológicas de las poblaciones de motoneuronas extraoculares se han estudiado con detalle en la carpa dorada (Pastor y col., 1991), así como su conectividad (Cabrera y col., 1992; Torres y col., 1992, 1995). Las motoneuronas de los núcleos motor ocular externo y motor ocular común muestran una actividad fásico-tónica relacionada con el movimiento ocular (Fig. 1.13A). Así, generan un brote de actividad que determina la amplitud y velocidad del movimiento sacádico en la dirección de activación. Por otro lado, muestran una actividad tónica que determina la posición en la que se fija el ojo en la órbita, aumentando la tasa de disparo para fijaciones oculares más excéntricas en la dirección de activación. Este patrón de actividad es similar al de las motoneuronas extraoculares de gatos y monos (De la Cruz y col., 1989; Delgado-García y col., 1986; Fuchs y col., 1988). Esta similitud sugiere que el sistema premotor es también funcionalmente semejante al encontrado en mamíferos.

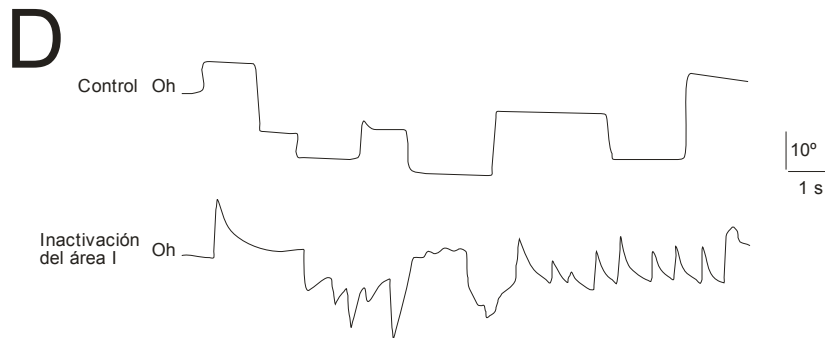
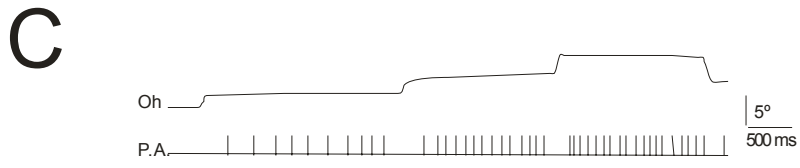
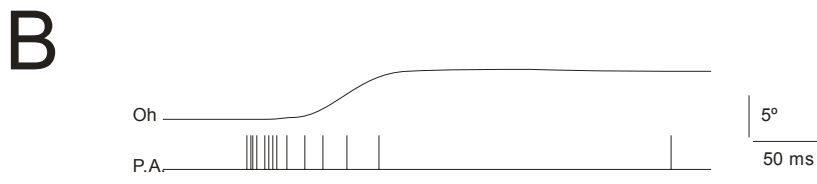
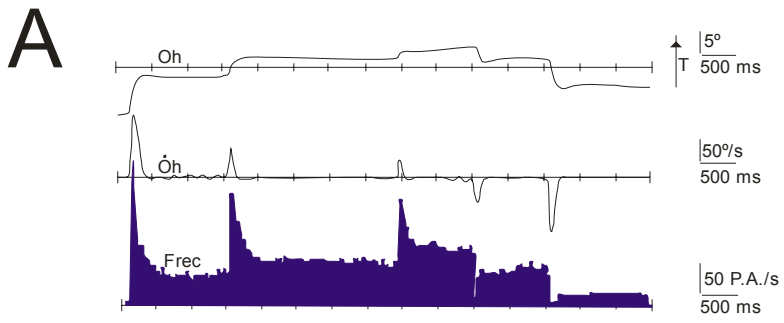


Figura 1.13. Fisiología del centro premotor ocular rombencefálico en la carpa dorada. **A.** Patrón de actividad de una motoneurona del núcleo motor ocular externo rostral durante una serie de movimientos espontáneos. Modificado de Pastor y col. (1991). **B.** Patrón de actividad de una neurona de brote cuya frecuencia de disparo aumenta antes del movimiento ocular. Modificado de Gestring y Sterling (1977). **C.** Patrón de actividad de una neurona relacionada con la posición ocular, la frecuencia de disparo aumenta con la posición excéntrica del ojo en la órbita en la dirección de activación. Modificado de Gestring y Sterling, (1977). **D.** En la parte superior se muestra un registro control de movimientos oculares y en la parte inferior un registro de movimientos oculares tras la inyección bilateral en el área I de lidocaina. Se observa que el animal es incapaz de mantener la posición del ojo. Modificado de Pastor y col. (1994). Abreviaturas: Frec, frecuencia de disparo; Oh, posición del componente horizontal del ojo; Oh, velocidad del componente horizontal del ojo; P.A., potenciales de acción; T, temporal. Calibraciones como se indican.

El estudio de las conexiones de los núcleos motores extraoculares también es semejante al encontrado en mamíferos (Cabrera y col., 1992; Torres y col., 1992, 1995). Las estructuras aferentes a estos núcleos podrían estar relacionadas con la generación de los movimientos oculares sacádicos de orientación, así como con los movimientos oculares de estabilización visual inducidos por estimulación vestibular y optocinética. Estas semejanzas han permitido sugerir que el sistema oculomotor, al menos desde la perspectiva de su salida motora, se ha mantenido de forma bastante inalterada desde un vertebrado ancestral (Beck y col., 2004; Graf y col., 1997; Marsh y Baker, 1997; Torres y col., 1995).

El sistema que genera la actividad fásica y, sobre todo, la tónica en las motoneuronas durante el movimiento horizontal ha sido ampliamente estudiado (Aksay y col., 2000, 2003; Gestring y Sterling, 1977; Pastor y col., 1994). Los resultados muestran, una vez más, una gran similitud con los encontrados en mamíferos (Fig. 1.13B, C; Gestring y Sterling, 1977). Así, en el entorno del núcleo motor ocular externo se han descrito neuronas de brote y de posición relacionadas con el movimiento sacádico y la fijación ocular, respectivamente. Además, y a pesar de que una estructura como el núcleo prepositus hipoglossi no se ha descrito en peces, la denominada área 1 del rombencéfalo realiza funciones de integración semejantes a las propuestas para dicho núcleo (Fig. 1.13D; Aksay y col., 2000, 2003; Pastor y col., 1994). El sistema premotor que controla los movimientos verticales del ojo en la carpa dorada esta aún por estudiar.

1.4.3. Papel de la formación reticular del mesencéfalo en la codificación de los movimientos sacádicos y del cuerpo.

Estudios de conexiones tectales y de registro intracelular han demostrado que las formaciones reticulares del mesencéfalo y del rombencéfalo reciben entradas sinápticas desde el techo en diferentes especies de peces (Fig. 1.14A; Bosch y Paul, 1993; Herrero y col., 1998b; Pérez-Pérez y col., 2000; Zompa y Dubuc, 1996, 1998a, b). Estos estudios sugieren que la vía tectoreticular podría estar implicada en las respuestas de orientación de forma similar a la descrita en mamíferos, implicando no sólo movimientos oculares sino también de la cabeza y cuerpo (Grantyn y col., 2004; Isa y Sasaki, 2002). Así, la estimulación eléctrica o neuroquímica de la formación reticular del mesencéfalo produce movimientos del cuerpo y de las aletas (Fig. 1.14B; Bernau y col., 1991; Fetcho y Svoboda, 1993; Uematsu y Todo, 1997). Estos movimientos podrían basarse en proyecciones directas e indirectas a la médula espinal (Prasada Rao y col., 1987; Timerik y col., 1992).

Sin embargo, la contribución de la formación reticular del mesencéfalo a la generación de los movimientos oculares en peces es casi desconocida. La observación de alguna de las figuras publicadas en los estudios de estimulación eléctrica realizados por Demski (Demski, 1982, 1983; Demski y Bauer, 1975) sugiere que desde la formación reticular mesencefálica se pueden producir movimientos oculares (Fig. 1.14C). Esta hipótesis también está reforzada por datos neuroanatómicos que muestran que esta estructura está recíprocamente conectada con el techo (Fig. 1.14D, E; Niida y Ohono, 1984; Niida y col., 1989). Dada esta ausencia de conocimientos, el estudio morfofuncional de la formación reticular del

mesencéfalo y su papel en la generación de los movimientos oculares de orientación será el centro de atención de este trabajo.

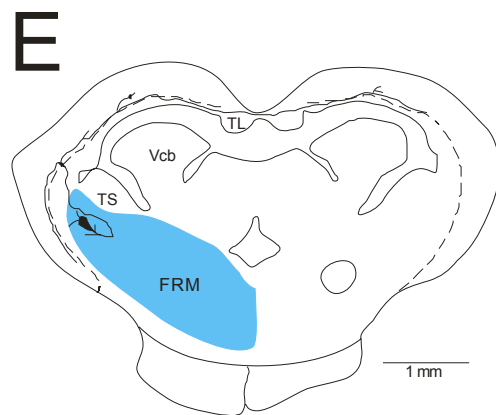
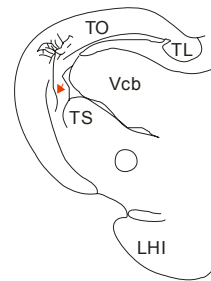
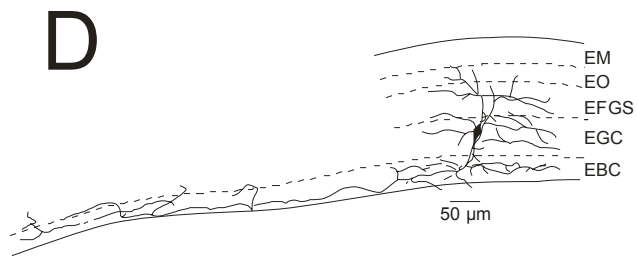
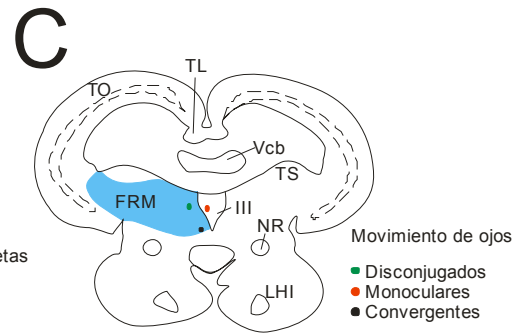
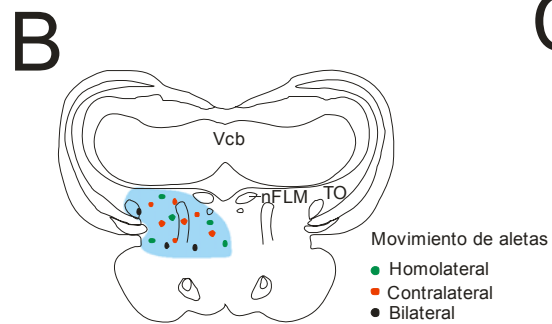
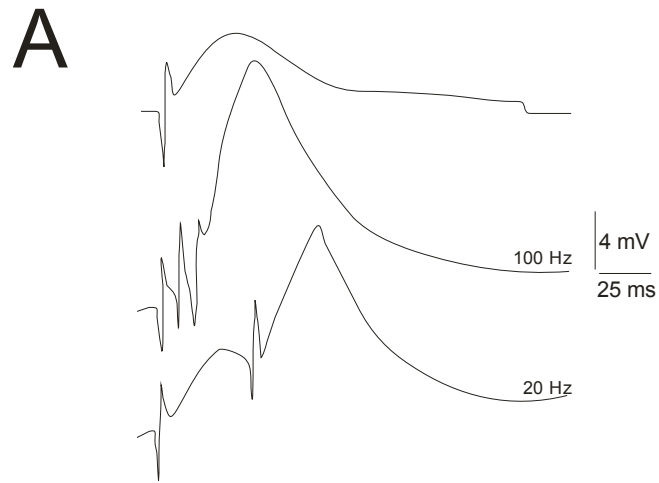


Figura 1.14. Fisiología y conectividad de la formación reticular del mesencéfalo (FRM) en peces. **A.** Activación monosináptica de neuronas de la FRM tras la estimulación tectal. Modificado de Zompa y Dubuc (1998b). **B, C.** Esquema de secciones coronales a nivel de la FRM mostrando los diferentes tipos de movimientos de aletas y del ojo que se pueden obtener tras su microestimulación eléctrica. Modificado de Uematsu y Todo (1997); Demski y Bauer (1975). **D.** A la izquierda se muestra un dibujo de una neurona tectal eferente que proyecta a la FRM (derecha). Modificados de Niida y col. (1989). **E.** Dibujo de un corte coronal mostrando la trayectoria de una neurona de la FRM que proyecta al techo óptico. Modificado de Niida y Ohono (1984). Abreviaturas: EBC, estrato blanco central; EFGS, estrato fibroso y gris superficial; EGC, estrato gris central; EM, estrato marginal; EO, estrato óptico; III, núcleo oculomotor; LHI, lóbulo hipotalámico inferior; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; NR, núcleo rojo; TL, toro longitudinal; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

2. PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS

2.1. Planteamientos y objetivo general.

Los resultados descritos anteriormente se pueden resumir como sigue:

1) El techo óptico de todos los vertebrados representa una estructura esencial para la generación de los movimientos de orientación. En particular, desde el techo óptico se generan los movimientos oculares sacádicos. La codificación tectal de estos movimientos se realiza en términos topográficos o espaciales.

2) La formación reticular del mesencéfalo es una región que recibe información desde el techo óptico en todos los vertebrados y, a su vez, proyecta a regiones relacionadas con la generación de los movimientos oculares.

3) El papel de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de movimientos sacádicos es poco conocido. Básicamente, se han planteado dos propuestas basadas en su contribución como sistema de relevo de la señal tectal o en su participación en sistemas de retroalimentación tectal.

Este trabajo es una continuación de otros previamente realizados por nuestro grupo dirigidos a estudiar tanto la salida del sistema motor ocular en peces como la génesis de los comandos motores de los movimientos oculares sacádicos de orientación. El objetivo general de este trabajo es estudiar la posible contribución de la formación reticular del mesencéfalo, estructura situada entre el techo óptico y el sistema inmediatamente premotor ocular, a la generación de movimientos sacádicos. Este estudio tratará de determinar similitudes y diferencias entre peces y mamíferos, lo que permitiría sugerir qué características fisiológicas y neuroanatómicas del sistema que genera los movimientos sácadicos aparecieron en

los vertebrados ancestrales, así como qué modificaciones adaptativas han surgido con la especiación.

2.2. Objetivos específicos.

Este estudio se ha dividido en tres bloques experimentales, cada uno de los cuales tiene sus propios objetivos específicos.

Primer grupo experimental: Estudio de la conectividad tectoreticular.

1. Determinar si la formación reticular del mesencéfalo está conectada recíprocamente con el techo óptico. Además, evaluar cuantitativamente la conectividad tectal con esta región y compararla con la de otras áreas del tronco del encéfalo. Este objetivo persigue conocer si la formación reticular de mesencéfalo es un área principal de conexiones con el techo óptico.

2. Estudiar las áreas de proyección tectal en la formación reticular y compararlas con la distribución de neuronas reticulotectales. Determinar la presencia de neuronas marcadas y no marcadas que presenten botones cercanos a ellas. Esta parte del estudio pretende conocer si a nivel regional y neuronal hay un sustrato anatómico para un circuito de retroalimentación tectoreticulotectal.

3. Conocer si las conexiones que establece el techo óptico con la formación reticular del mesencéfalo dependen de las propiedades funcionales de cada área tectal. Con ello se quiere indagar sobre el sustrato anatómico que hace posible la decodificación de la señal tectal.

Segundo grupo experimental: Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo.

1. Determinar si desde la formación reticular del mesencéfalo se pueden generar movimientos oculares de características semejantes a los espontáneos. Este objetivo pretende conocer si esta estructura está implicada en el circuito de generación de movimientos oculares en peces, además de si la técnica es apropiada para esta parte del estudio.

2. Estudiar si movimientos oculares con diferente dirección se producen desde distintas zonas de la formación reticular del mesencéfalo. Con ello se intenta investigar si este área podría participar en la descodificación de la señal tectal en coordenadas cartesianas.

3. Investigar si la amplitud de los movimientos depende del sitio estimulado o de la posición ocular de inicio del movimiento. Se intenta conocer si la codificación reticular de la amplitud del movimiento se realiza en términos espaciales o temporales, así como si la señal reticular está controlada por circuitos de retroalimentación.

4. Estudiar si la formación reticular participa en la generación de movimientos de convergencia y dirigidos a una meta.

5. Determinar si las características métricas y cinéticas de los movimientos oculares están influidos por los parámetros de estimulación. Con ello se quiere conocer si los comandos reticulares se codifican en términos temporales.

Tercer grupo experimental: Estudio de la conectividad de la formación reticular del mesencéfalo con el techo óptico.

1. Estudiar la localización de las neuronas tectales que proyectan a la formación reticular mesencefálica. Con ello se quiere conocer si son las capas intermedias y profundas, probablemente implicadas en la generación de comandos motores, las que proyectan a este área reticular. Además, se pretende conocer si las neuronas reticulares proyectan a dichas capas tectales. Una conexión de este tipo podría sugerir el papel de las neuronas reticulares en el control, mediante sistemas de retroalimentación, de la salida motora tectal.

2. Determinar si las vías que conectan al techo óptico con el mesencéfalo y rombencéfalo son las mismas o no. Se pretende conocer si hay una o más vías de salida de la señal tectal.

3. Determinar si las conexiones reticulotectales están influidas por las propiedades funcionales del área reticular estudiada. Esta parte del estudio va nuevamente encaminada a determinar si: i) existe un sistema topográfico que permita tanto la descodificación de la señal tectal en coordenadas cartesianas; y ii) si el posible circuito de retroalimentación también depende de las propiedades funcionales reticulares.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Animales de experimentación.

Los experimentos se realizaron en carpas doradas (*Carassius auratus*). Su tamaño fue de 12-18 cm, medidos desde la boca a la base de la aleta caudal. Se siguieron las recomendaciones que se establecen en la Directiva del Consejo de 24 de noviembre de 1986 (86/609/CEE) y que han sido incorporadas por el Estado Español en el Real Decreto 223/1988 del 14 de Marzo (BOE, 18 de Marzo de 1988) sobre la manipulación de animales para experimentación. Antes de cualquier experimento, los animales se mantuvieron al menos 2 semanas en acuarios a 20°C, y se alimentaron regularmente.

Los resultados presentados proceden de un total de 29 animales. Estos animales se distribuyeron en los siguientes grupos:

- Estudio de la conectividad tectoreticular. Se analizaron los resultados de seis animales en los que los sitios de inyección y la calidad del marcaje se juzgaron como adecuados para su estudio.
- Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo en la generación del movimiento ocular sacádico. Para esta parte del estudio se utilizaron once animales.
- Estudio de la conectividad de la formación reticular del mesencéfalo con el techo óptico. Se analizaron los resultados de doce animales, sólo aquellos que cumplieran satisfactoriamente con los criterios de localización del sitio de inyección y que el marcaje fuese nítidamente observado lejos del sitio de inyección.

3.2. Procedimientos quirúrgicos.

Para todo proceso quirúrgico, el animal se anestesió pasando a través de las branquias un flujo de agua aireada que contenía 100 mg/litro de metanosulfonato de tricaína (3-ácido aminobenzóico etil éster, MS222, Sigma). El nivel de anestesia se mantuvo durante toda la cirugía, como se manifestó por la ausencia de reflejos. Además, se aplicó lidocaina, como anestésico local, y Betadine, como desinfectante, en la zona donde se practicó la craneotomía.

Para el procedimiento experimental, el animal se envolvió en una gasa estéril humedecida alrededor del abdomen y se colocó entre dos soportes plásticos en el interior de una cámara de metacrilato, quedando parcialmente cubierto de agua. La boca del animal se fijó a un tubo de plástico. A través del tubo se pasó un flujo constante de agua bien aireada, movida por una bomba de corriente continua, a través de las branquias (Fig. 3.1A).

Los experimentos comenzaron con la apertura de una cavidad a través del cráneo (de hasta aproximadamente 4x4 mm), situada dorsal al mesencéfalo. La craneotomía se realizó mediante bisturí y bajo observación directa a través de una lupa binocular (hasta 40x, Olympus). Una vez retirado el hueso craneal, se cortaron las meninges y se retiró el tejido graso que protege al cerebro. Tras estos pasos se pudieron observar los dos lóbulos tectales, la comisura intertectal y las porciones caudal del telencéfalo y rostral del cuerpo del cerebelo. Para asegurar la estabilidad en los procesos de registro e inyección del trazador neuronal, se inmovilizó la cabeza colocando 2 barras rígidas que sujetaron los huesos temporales del animal a

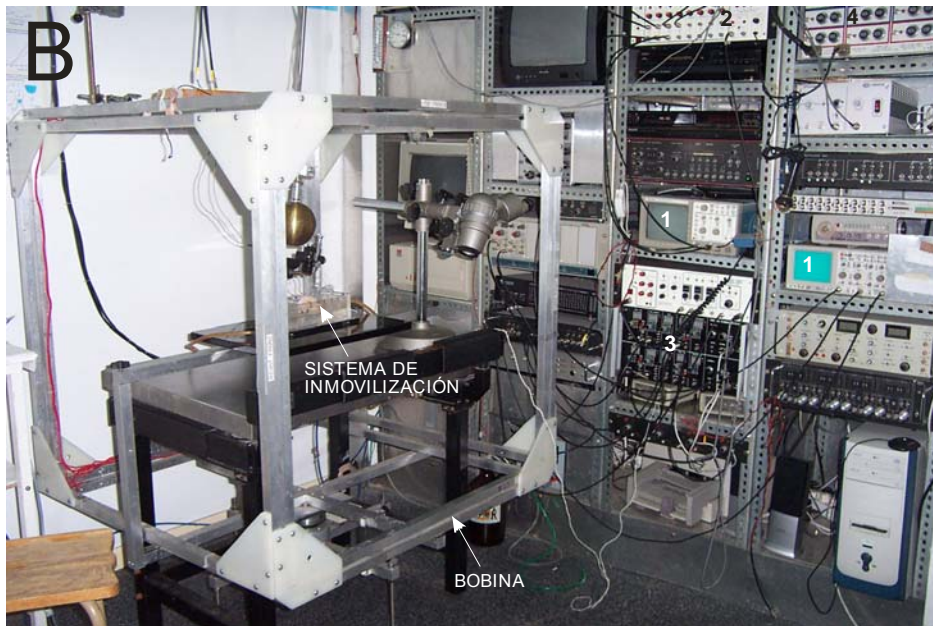
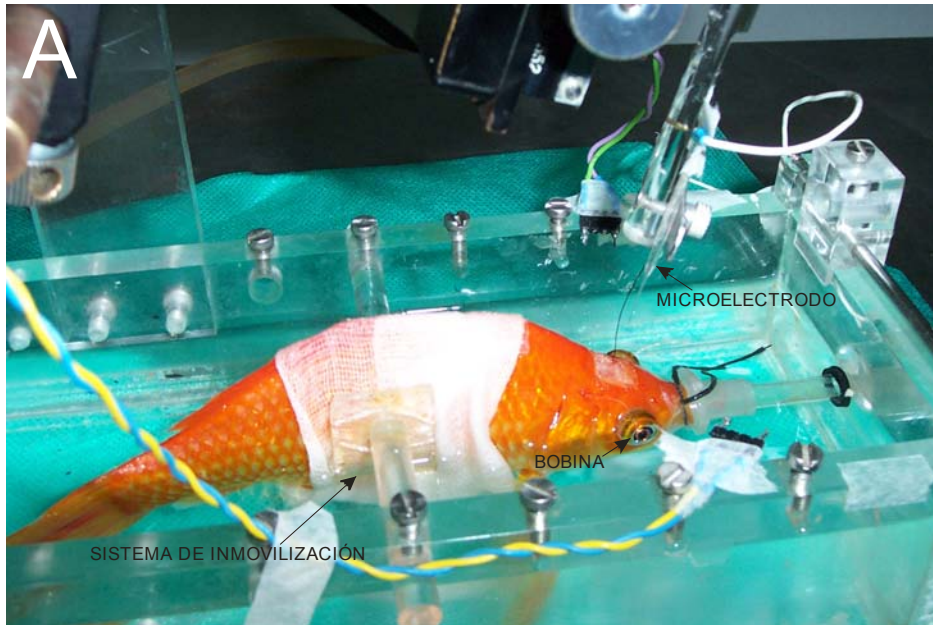


Figura 3.1. Sistema de inmovilización, estimulación y registro de los movimientos oculares en la carpa dorada. **A.** Fotografía mostrando el sistema de inmovilización de la carpa dorada. También se ilustra la posición del microelectrodo utilizado para la estimulación del techo óptico y la formación reticular mesencefálica, así como la bobina implantada en el ojo para el registro de los movimientos oculares. **B.** Visión general del sistema de estimulación y registro. En la parte izquierda de la fotografía se muestra la bobina que induce el campo electromagnético para el registro del movimiento ocular, y en su centro el sistema de inmovilización del animal. A la derecha se muestra los equipos electrónicos usados: 1, osciloscopios; 2, sistema de almacenamiento de las señales; 3, estimulador; 4, sensor de la posición ocular.

las paredes de la cámara. Estos procedimientos fueron comunes en todos los experimentos realizados.

3.3. Estudios electrofisiológicos.

3.3.1. Registro de movimientos oculares.

Los movimientos oculares producidos por estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica o del techo óptico se registraron mediante la técnica de seguidor magnético de la posición ocular (Robinson, 1963). Según esta técnica, en una bobina sometida a un campo magnético se induce un voltaje que es proporcional al ángulo que guarda la bobina con respecto al eje del campo magnético. Así, permite medir, con gran precisión, los desplazamientos del ojo en sus componentes horizontal y vertical. Para ello, se implantaron en cada ojo bobinas de 2,3 mm de diámetro, hechas de 60 vueltas de hilo de cobre de 25 μm de grosor aislado (Sokymat, Granges, Suiza). El tanque con el animal preparado para la estimulación se colocó dentro del campo magnético, situándose los ojos del animal en el centro de dicho campo (Fig. 3.1B). Las calibraciones de los movimientos oculares se obtuvieron rotando el campo magnético a ángulos conocidos (5° , 10° y 20°) alrededor de la bobina estática del ojo. A continuación, se realizaron 2-3 cambios de agua del tanque para eliminar el anestésico circulante. Los animales recuperaron el estado de alerta 10-15 minutos después del primer cambio de agua, como se pudo comprobar por el restablecimiento del patrón normal de movimientos oculares (Salas y col., 1992). La posición cero en la órbita se definió como la mitad del rango del movimiento ocular después de 15 minutos de movimientos oculares espontáneos. La repetición de este procedimiento al final del experimento mostró

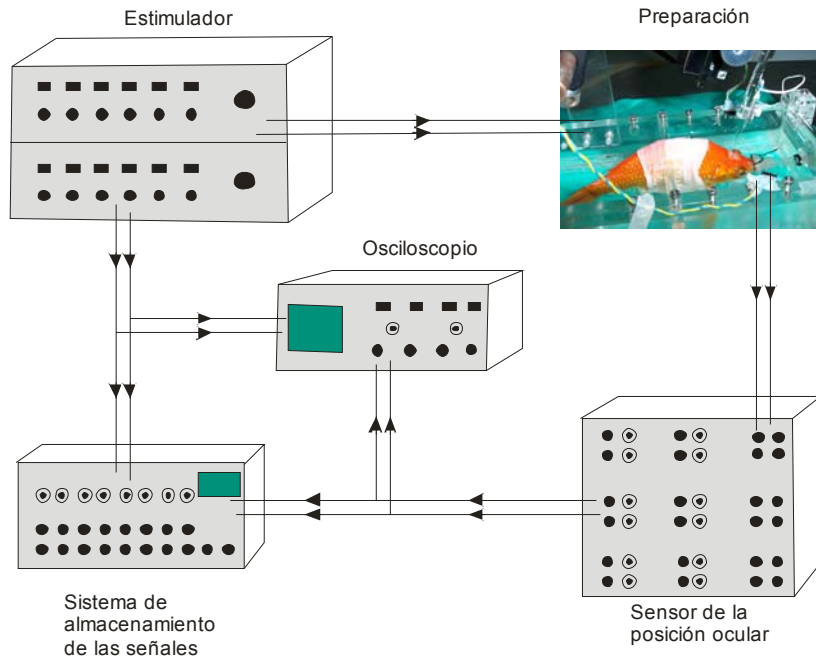
que la posición cero en la órbita no varió durante la sesión experimental. Todos los registros de movimientos oculares, así como los estímulos eléctricos, se almacenaron en video (Neuro-Corder, Neuro Data Instruments) para su posterior análisis (Fig. 3.2A).

3.3.2. Microestimulación eléctrica utilizada en el registro de los movimientos oculares.

La estimulación eléctrica se llevó a cabo con microelectrodos monopolares metálicos, contruidos a partir de un hilo de acero inoxidable de 25 μm de diámetro aislado en una micropipeta de vidrio, usando un tren de pulsos catódicos producidos desde una unidad de estimulación de corriente constante (Cibertec CS220). En la estimulación eléctrica se usaron los siguientes parámetros: frecuencia 500 Hz, duración 50 ms, y la intensidad de corriente se ajustó para cada sitio de estimulación (rango 5-30 μA), siendo esta última 1,25 supraumbral. Cuando se trató de determinar el efecto de los parámetros de estimulación, se variaron sistemáticamente la intensidad de corriente (0 a 50 μA), la frecuencia del pulso (0 a 700 Hz) y la duración del tren de estímulos (0 a 300 ms).

Para determinar la influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud y dirección de los movimientos producidos, desde cada sitio estimulado se produjeron al menos 15 movimientos oculares sacádicos desde posiciones oculares iniciales seleccionadas al azar. En todos los casos, se consideró como vector representativo la media de todos los sacádicos producidos desde diferentes posiciones. Para estudiar los efectos de cambios en los parámetros de estimulación,

A



B

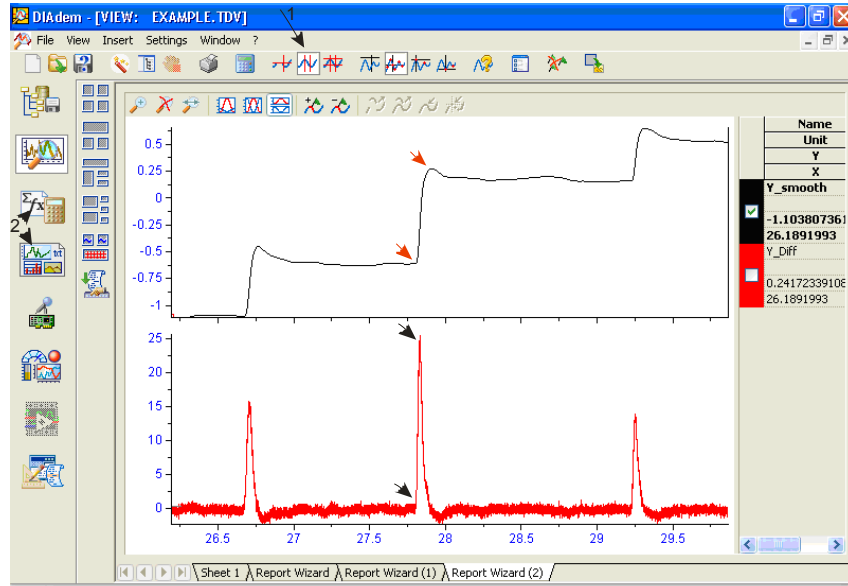


Figura 3.2. Sistema de registro, almacenamiento y análisis de los movimientos oculares. **A.** Esquema mostrando el dispositivo utilizado para la estimulación, el registro y almacenamiento de las señales de posición ocular. **B.** Imagen mostrando el programa utilizado para el análisis de la posición (arriba) y velocidad ocular (abajo). 1, indica la opción para seleccionar los cursores (mostrados mediante flechas en la pantalla principal); 2, indica las funciones matemáticas y gráficas del programa.

los movimientos oculares se produjeron siempre desde la misma posición inicial del ojo en la órbita. En este caso, se escogió una posición inicial ocular nasal o temporal extrema. Esta posición dependió de si los movimientos oculares sacádicos que se produjeron por la estimulación se dirigieron hacia el lado donde se situó el electrodo de estimulación en el cerebro (movimientos homolaterales) o hacia el lado opuesto (movimientos contralaterales).

Para abordar el estudio de la formación reticular del mesencéfalo, se tomó la línea que separa la superficie rostral del cerebelo de la porción caudal del techo óptico como posición cero en el eje anteroposterior. El centro de la comisura tectal se tomó como la posición cero en el eje mediolateral. Así, partiendo de estos puntos de referencia, se avanzó el microelectrodo con ayuda del micromanipulador (Narishige) y se anotó la localización anteroposterior y mediolateral de las diferentes penetraciones realizadas. Las profundidades elegidas variaron desde 2 mm a 3,250 mm, según la zona estimulada. Para identificar la localización de la punta del electrodo, se hizo una pequeña lesión usando un pulso catódico simple de 7-10 μ A durante 15 segundos, o en el caso de realizar un depósito del trazador biotina dextrano amina (BDA), éste señaló la situación del sitio estimulado.

En el caso del estudio de la conectividad tectoreticular, el techo se midió en sus ejes anteroposterior y mediolateral. Las medidas se tomaron bajo la lupa binocular. A partir de este punto se seleccionaron las coordenadas de los polos tectal anteromedial y posteromedial. En estos se estudió funcionalmente su fisiología mediante la técnica de estimulación eléctrica y se realizaron los depósitos del

trazador neuronal. En todos los casos se seleccionaron las capas intermedias y profundas del techo, que se situaron entre 350-500 μm , como zona de estudio. A esta profundidad se produjeron los movimientos con umbrales de estimulación más bajos, 20-30 μA .

3.3.3. Histología.

Al término de las sesiones experimentales, los animales se reanestesiaron con una solución de metanosulfonato de tricaina a razón de 400 mg por litro de agua y se perfundieron transcardíacamente. En primer lugar, se pasaron 150 ml de solución salina, para posteriormente continuar con 200 ml de solución fijadora, formaldehído al 10% en tampón fosfato 0,1 M. Una vez se extrajo el cerebro, se pasó a una solución compuesta por sacarosa al 30% en tampón fosfato 0,05 M durante 24 horas a 4°C. Tras este tiempo, se cortó con un microtomo de congelación (Leica, 1325) en secciones de 50 μm de espesor que se tiñeron con rojo neutro para localizar los sitios de estimulación.

3.3.4. Análisis de los datos.

Por último, se procedió al análisis de los registros electrofisiológicos almacenados en cintas de video. Los componentes horizontal y vertical de los movimientos sacádicos, así como sus velocidades, se mostraron en la pantalla de un osciloscopio digital (Tektronic, TDS 420) o bien se procesaron a través de una tarjeta convertidora A/D de National Instruments (Fig. 3.2B). Las posiciones inicial y final del ojo, así como la velocidad, duración y latencia de los movimientos oculares se midieron empleando cursores. Para representar los movimientos oculares como

vectores, los componentes horizontal y vertical del movimiento se trasladaron a un sistema de coordenadas XY, en el cual 0° horizontal y vertical correspondía al centro del rango oculomotor. La línea que cruzaba la órbita, dividiéndola en dos mitades, superior e inferior, se definió como el meridiano horizontal.

En base a las marcas electrolíticas, las localizaciones de los sitios de estimulación en cada experimento se reconstruyeron sobre secciones coronales del mesencéfalo. Sólo aquellos sitios localizados dentro de los límites de la formación reticular mesencefálica, y que no se extendieron a otras estructuras, se consideraron en este estudio. Para ilustrar la localización de los sitios de estimulación, y puesto que la longitud del eje anteroposterior varió ligeramente entre animales (2,100 – 2,300 μm), dicho eje se normalizó de 0 a 100% con respecto al polo rostral de la formación reticular mesencefálica. Tres secciones representativas de las zonas anterior, medial y posterior se seleccionaron para localizar todos los sitios estimulados. Las localizaciones de los sitios estimulados en los ejes mediolateral y dorsoventral también se normalizaron siguiendo un criterio similar al descrito para el eje anteroposterior. A lo largo de cada uno de los tres ejes anatómicos, la formación reticular mesencefálica se dividió en tres tercios. Como resultado, cada sitio de estimulación se podía clasificar como: anterior, medial o posterior para el eje anteroposterior; medial, intermedia o lateral para el eje mediolateral; y dorsal, medial o ventral para el eje dorsoventral.

3.4. Estudios anatómicos.

3.4.1. Inyección iontoforética del marcador biotina dextrano amina.

Previamente a la inyección del trazador neuronal biotina dextrano amina (biotin dextran amine lysine fixable, BDA, peso molecular 10.000, Molecular Probes), se determinó funcionalmente el sitio del techo óptico o la formación reticular mesencefálica a inyectar. Para ello, se utilizó la técnica anteriormente descrita de microestimulación eléctrica. Así, se avanzó en el techo óptico o la formación reticular mesencefálica un microelectrodo metálico de acero inoxidable (25 μm de diámetro) aislado en una micropipeta de vidrio a través del cual se aplicaron trenes de estímulos con las siguientes características: intensidad, 10-30 μA ; frecuencia del pulso, 500 Hz; duración del tren de estímulos, 50 ms; y ancho de cada pulso del tren de estímulos, 0,2 ms. Con estos parámetros de estimulación se produjeron movimientos oculares de diferentes características funcionales. Los sitios de inyección se seleccionaron de acuerdo a dichas características.

Las inyecciones se llevaron a cabo con micropipetas de vidrio de 2 mm de diámetro interno (A.M. Systems Inc.), estiradas al calor previamente hasta conseguir puntas de $15 \pm 2 \mu\text{m}$. Estas micropipetas se rellenaron con el marcador BDA momentos antes de la inyección. Dicho marcador se transporta tanto anterógrada como retrógradamente y se empleó diluido al 5% en una solución de cloruro sódico (0,5 M) al 50% y tampón fosfato (0,1M; pH 7,4) al 50%. El marcador BDA se inyectó mediante la técnica de microiontoforesis. Dicha técnica consiste en la inyección de diferentes sustancias en el espacio circundante a una población de neuronas mediante la aplicación de una corriente eléctrica a la solución contenida en la

micropipeta (Curtis y col., 1970). Los parámetros utilizados fueron: 6-8 μA , en pulsos 10 s activo/ 5s inactivo, durante 12 minutos. Para dejar estabilizar la inyección y así evitar la retirada de parte del marcador inyectado, se esperó 3 minutos después del tiempo de inyección antes de retirar la micropipeta.

Tras la inyección, se colocó la tapa de hueso retirada previamente y el borde del mismo se selló con cemento dental y un tornillo para afianzar la unión al hueso. Una vez retirado el anestésico del tanque, los animales se recuperaron rápidamente y se mantuvieron en acuarios individualizados.

3.4.2. Fijación y procesado del material.

Después de un periodo de supervivencia de 7-10 días, los animales se anestesiaron con una solución de metanosulfonato de tricaina a razón de 400 mg por litro de agua y se perfundieron transcardíacamente.

En primer lugar se les realizó una apertura en la zona torácica para visualizar el corazón. Una vez limpiada la zona, se hizo pasar un hilo de sutura por debajo del corazón y se anudó, sin llegar a ajustarlo. A continuación, se realizó un pequeño corte en el bulbo arterioso y se introdujo una cánula, la cual estaba conectada a una bomba peristáltica (Masterflex, Cole Parmer). Para evitar el retroceso de dicha cánula, se ajustó el nudo del hilo de sutura previamente colocado. Seguidamente, se pasaron 150 ml de solución salina, y a continuación 200 ml de solución fijadora (paraformaldehído al 0,5%, glutaraldehído al 1% y sacarosa al 4%, todo ello disuelto en tampón fosfato 0,05 M, pH 7,4).

Finalmente, se procedió a la extracción del cerebro y a su posterior postfijación en la misma solución fijadora empleada, durante un periodo de 2-6 horas a una temperatura de 4°C. Tras este tiempo de postfijación se pasó el tejido a una solución compuesta por sacarosa al 30% en tampón fosfato 0,05 M durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, se obtuvieron secciones coronales de 50 µm de espesor, utilizando un microtomo de congelación (Leica, 1325).

Para revelar la BDA, los cortes de tejido se procesaron de la siguiente manera:

1. Recogida de los cortes en una solución de lavado de TBS durante 15 minutos.
2. Inactivación de la actividad peroxidasa endógena del tejido, mediante la inmersión de los cortes en una solución de H₂O₂ (Merck), al 5% en metanol y TBS, durante 15 minutos.
3. Segundo lavado de los cortes en tampón TBS durante 15 minutos.
4. Aumento de la permeabilidad de las membranas, mediante el tratamiento por inmersión en una solución mezcla de tampón TBS con Tritón X-100 (t-Octylphenoxypolyethoxyethanol, Sigma) al 0,05% durante 40 minutos.

5. Lavado en TBS durante 15 minutos.
6. Incubación de las muestras durante 2 horas en una solución formada por el Kit ABC Vectastain Elite (Vector) en una proporción de 35 μ l de A y 35 μ l de B en 10 ml de TBS⁺.
7. Lavado en TBS⁺ durante 15 minutos.
8. Lavado en Tris-HCl durante 15 minutos.
9. Revelado de la BDA con una solución formada por 3'3-diaminobenzidina (Sigma) al 0,05% en tampón Tris-HCl y amoniato de níquel al 1% (Fluka). A continuación se añadió H₂O₂ , que ayudó a revelar la actividad peroxidasa, a una concentración final de 0,03%.
10. Lavado en Tris-HCl por dos veces de 15 minutos cada uno, para detener la reacción anterior.

Todos los pasos se realizaron con agitación constante y suave. A continuación, estos cortes se montaron en portas gelatinizados, en dos series paralelas, y se secaron al aire. Una de esas series se contratiñó con el método Nissl-Rojo Neutro, y la otra se sometió a una deshidratación en una graduación de

alcoholes a concentración creciente. Por último, ambas series se cubrieron con DPX (Fluka).

3.4.3. Análisis de los resultados

Los cortes se observaron bajo un microscopio óptico (D-7082 Axiophot Oberkochen, Zeiss), o bien en un microscopio Olympus. Los microscopios disponían de un sistema de fotografía digital conectada a un ordenador personal. El ordenador disponía de sistemas de análisis de imagen. La determinación del sitio de inyección se realizó estudiando, en cortes alternos, la localización y extensión de los sitios de inyección tanto en su núcleo central como en el área de dispersión. Para el estudio de los campos de proyección, las secciones seleccionadas se dibujaron con un aumento de 300x, y el número de botones se contó con una magnificación de 500x. Para los estudios de proyecciones aferentes neuronales se marcó la localización de los somas sobre los dibujos de la sección coronal seleccionada (realizados a 50x).

4. RESULTADOS

4.1. Estudio de la conectividad tectoreticular.

4.1.1. Localización e identificación funcional de los sitios de inyección.

En los seis casos experimentales estudiados, los núcleos de las diferentes inyecciones de BDA se localizaron en sitios tectales identificados fisiológicamente. Las inyecciones se agruparon en anteromediales y posteromediales (Fig. 4.1A, B). Las inyecciones anteromediales (Fig. 4.1A) se extendieron en una porción limitada del techo óptico, nunca mayor del 3% de su superficie, para los núcleos, o del 10% para las áreas de dispersión (casos 1, 2, 3 en Fig. 4.1C). Para las inyecciones posteromediales (Fig. 4.1B), los núcleos y las zonas de dispersión también estuvieron restringidas en el techo óptico; así, no se extendieron más del 2% y 8%, respectivamente, de la superficie total (casos 4, 5, 6 en Fig. 4.1C). Las inyecciones anteromediales y posteromediales se situaron totalmente separadas en el techo óptico (Fig. 4.1C). En todos los casos experimentales, los núcleos de las inyecciones se situaron en las capas tectales profundas. El número de células marcadas en las capas profundas del techo óptico varió entre 1027 y 2347, mientras que en las capas superficiales varió entre 33 y 149.

Las propiedades fisiológicas de los sitios seleccionados para las inyecciones anteromediales y posteromediales también fueron diferentes. La microestimulación eléctrica de los sitios de inyección anteromediales produjo movimientos sacádicos oblicuos dirigidos hacia arriba (Fig. 4.1D). El componente horizontal de estos movimientos varió entre $4,8^\circ$ y $11,6^\circ$ ($8,2^\circ \pm 1,9^\circ$; media \pm error estándar), y el componente vertical varió entre $4,4^\circ$ y $11,2^\circ$ ($8,3^\circ \pm 2,4^\circ$). El ángulo del vector de estos movimientos sacádicos varió entre $33,5^\circ$ y $65,8^\circ$ ($56,7^\circ \pm 7,7^\circ$). La estimulación

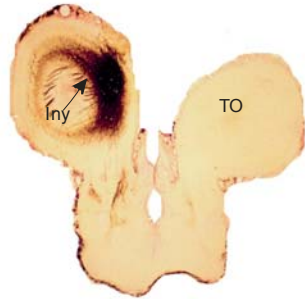
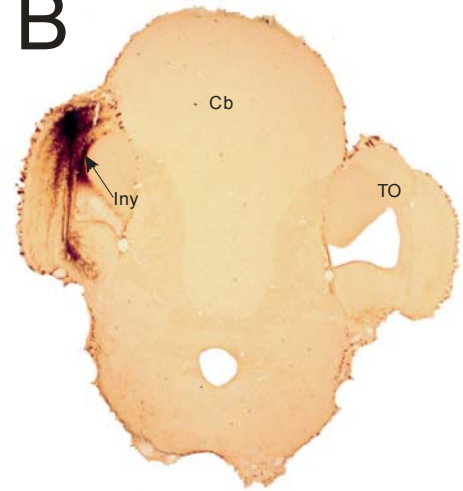
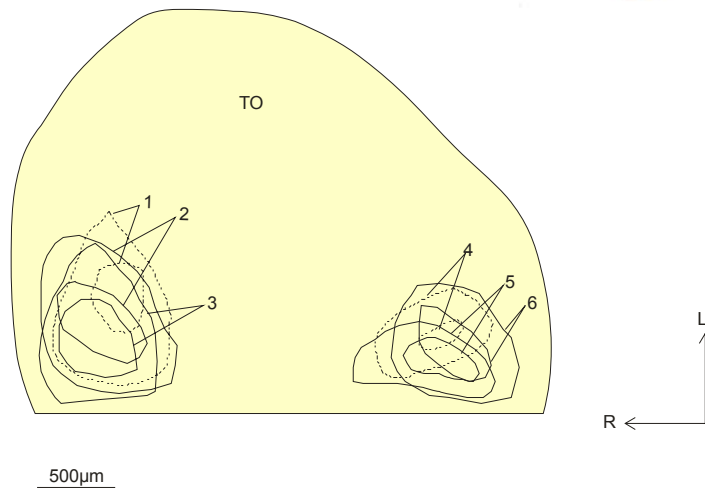
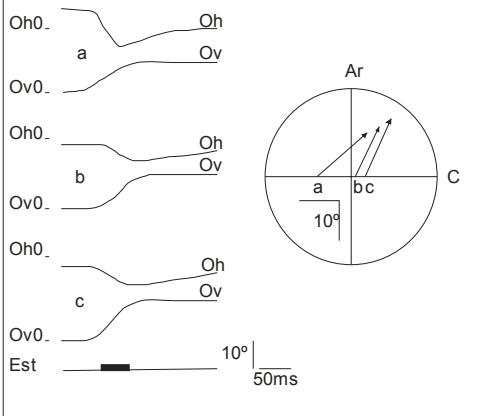
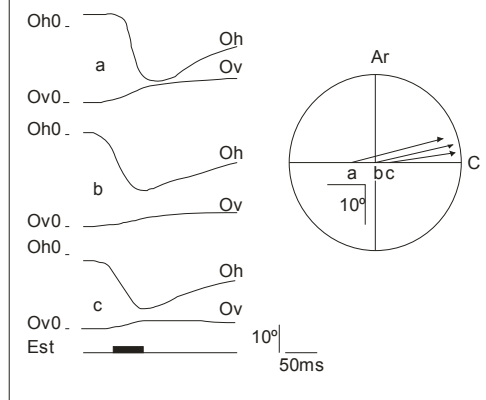
A**B****C****D****E**

Figura 4.1. Localización e identificación fisiológica de los sitios de inyección en el techo óptico. **A, B.** Fotomicrografías de secciones coronales del cerebro de la carpa a nivel de los sitios de inyección en las zonas tectales anteromedial (A) y posteromedial (B). **C.** Visión dorsal del techo óptico mostrando la localización y extensión del núcleo (círculo interior) y área de dispersión (círculo exterior) de cada uno de los sitios de inyección. 1-3 y 4-6 representan los casos estudiados para las inyecciones en las zonas tectales anteromedial y posteromedial, respectivamente. **D, E.** Tres movimientos oculares (a-c), con diferente posición inicial del ojo en la órbita, producidos desde una zona tectal representativa anteromedial (caso 3 en C) y desde una zona tectal representativa posteromedial (caso 4 en C). A la izquierda se representa el curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de tres movimientos sacádicos representativos producidos desde cada zona tectal. Oh0, Ov0 son las posiciones centrales de los componentes horizontal y vertical de la posición del ojo en la órbita, respectivamente. A la derecha, se muestra la representación vectorial de los tres movimientos (a-c) en la órbita. Abreviaturas: Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; Iny, sitio de inyección; L, lateral; R, rostral; Cb, cerebelo; TO, techo óptico. Calibraciones como se indican.

eléctrica de los sitios de inyección posteromediales produjo movimientos sacádicos oblicuos (Fig. 4.1E), cuyo componente horizontal varió entre $6,2^\circ$ y $29,4^\circ$ ($16,9^\circ \pm 6,9^\circ$), mientras que el vertical varió entre 0° y 8° ($1,7^\circ \pm 2,4^\circ$). El ángulo del vector de estos movimientos oculares varió entre 0° y $18,4^\circ$ ($3,7^\circ \pm 5,7^\circ$).

4.1.2. Conectividad recíproca entre el techo óptico y la formación reticular.

El techo óptico está conectado con el mesencéfalo y el rombencéfalo a través del tracto descendente (Grover y Sharma, 1979, 1981; Luiten, 1981). Los axones eferentes de este tracto terminan en delgadas ramas dentro de la formación reticular, entre otras estructuras (Herrero y col., 1998a; Pérez-Pérez y col., 2000). Frecuentemente, estas ramas mostraron botones con apariencia “en passant” (Fig. 4.2A, B), aunque también se pudieron observar botones con morfología terminal que surgían de ramificaciones delgadas y cortas (Fig. 4.2C). Las aferencias tectales se originaron, al menos en parte (Grover y Sharma, 1981; Luiten, 1981) desde neuronas de la formación reticular, cuya morfología fue variada (Fig. 4.2D-F). Algunas neuronas marcadas presentaron un soma con forma piramidal ($15,1 \pm 1,2 \mu\text{m}$, diámetro medio \pm error estándar; Fig. 4.2D) y dendritas multipolares. Otras células (Fig. 4.2E, F) mostraron somas fusiformes ($14,1 \pm 0,6 \mu\text{m}$) y piriformes ($13,5 \pm 0,7 \mu\text{m}$). Estas últimas células presentaron dendritas bipolares y monopolares, respectivamente. En algunos casos, se observaron botones cercanos a neuronas reticulares mesencefálicas marcadas retrógradamente (Fig. 4.2G-I). Ocasionalmente, se observaron botones, que surgían del mismo axón, cercanos a neuronas marcadas retrógradamente y células contrateñidas en la formación reticular (Fig. 4.2I).

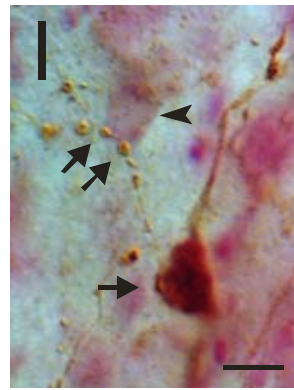
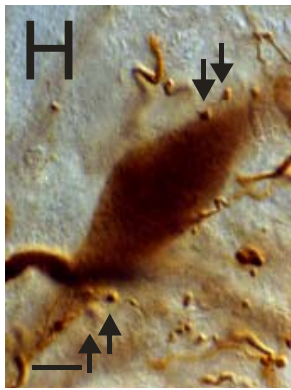
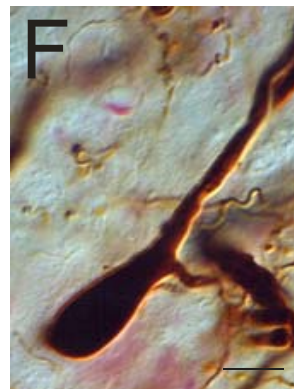
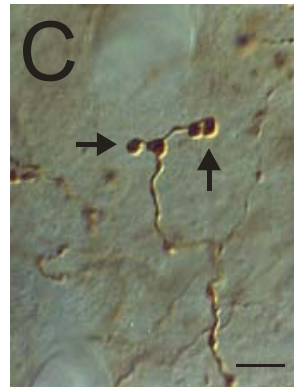
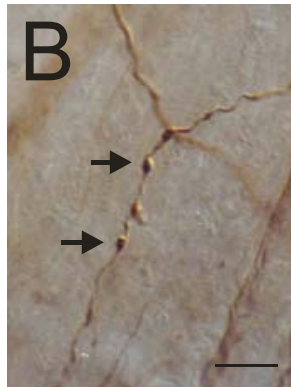
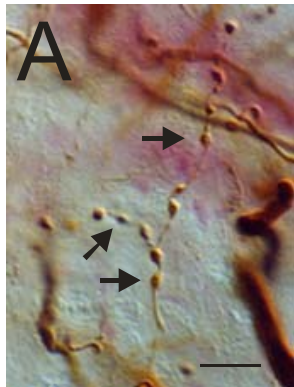
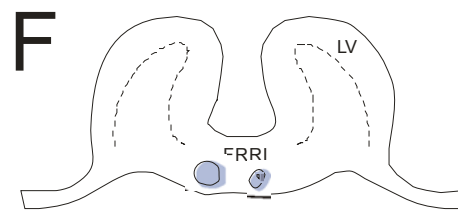
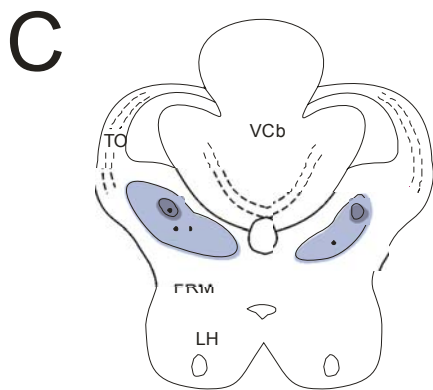
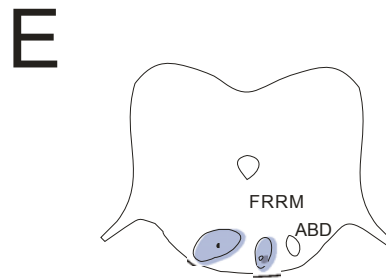
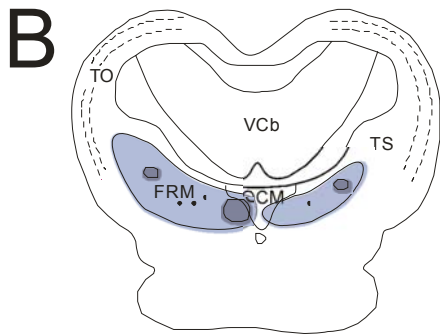
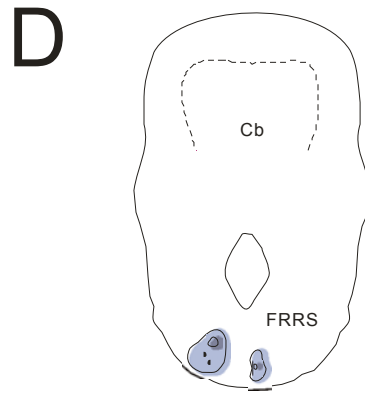
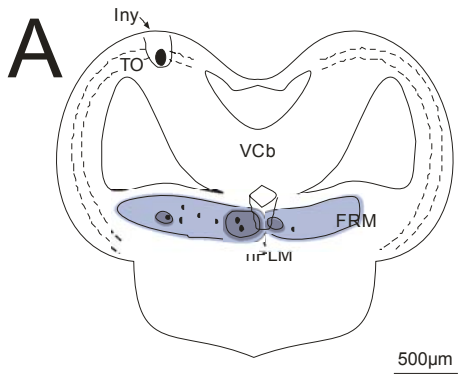
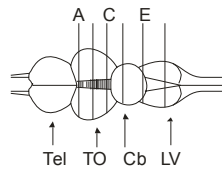


Figura 4.2. Fotomicrografías ilustrando varios tipos de botones y neuronas marcados en la formación reticular. **A-C.** Algunos ejemplos de botones (flechas) procedentes de axones del tracto tectal descendente en la formación reticular, con morfología “en passant” (A, B) y terminal (C). **D-F.** Diferentes morfologías de neuronas marcadas retrógradamente. **G, H.** Botones cercanos a neuronas marcadas retrógradamente (flechas). **I.** Axón con botones (flechas) cercanos a una célula contrateñida (cabeza de flecha) y a una neurona marcada retrógradamente. Calibración: 10 μm .

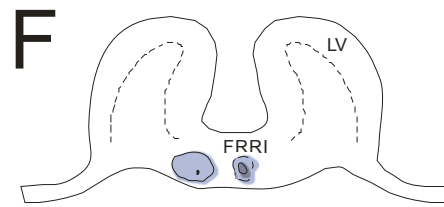
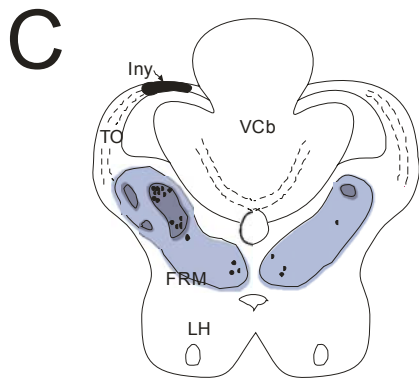
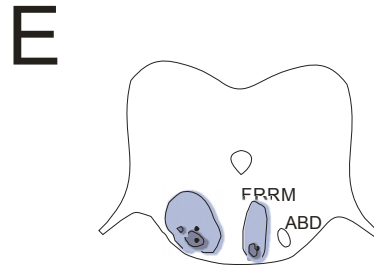
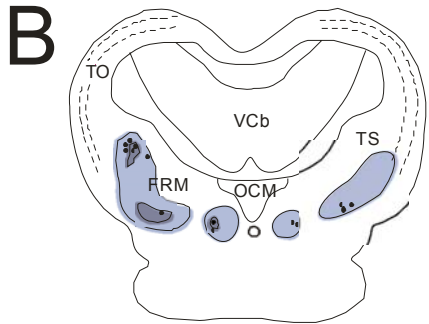
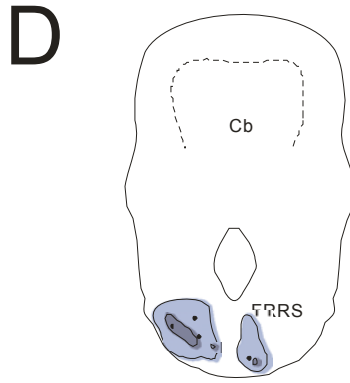
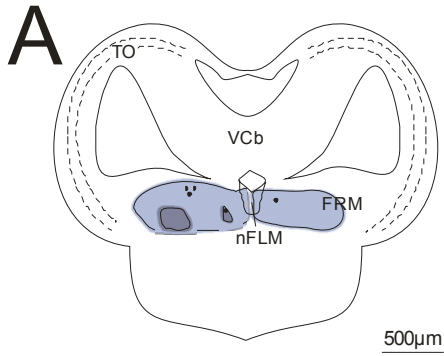
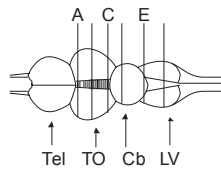
Las figuras 4.3 y 4.4 ilustran las áreas de campos de proyección (regiones coloreadas) en las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica, así como la localización de las neuronas reticulares que proyectaron al techo óptico (puntos negros). Los campos terminales se extendieron tanto homolateral como contralateralmente al sitio de inyección (Figs. 4.3A-C y 4.4A-C). Las neuronas marcadas retrógradamente con BDA también se localizaron a ambos lados de la formación reticular.

Tanto para inyecciones de BDA localizadas en posición anteromedial o posteromedial en el techo, en el nivel más rostral de la formación reticular mesencefálica, los botones y las neuronas marcados con BDA se encontraron cerca de la línea media, incluyendo el núcleo del fascículo longitudinal medial (Figs. 4.3A y 4.4A). Sin embargo, la zona con mayor densidad de botones se situó más cercana a la línea media tras las inyecciones tectales anteromediales que tras las inyecciones posteromediales. Las neuronas se localizaron de manera similar en este nivel mesencefálico, independientemente del sitio de inyección. Más caudalmente en el mesencéfalo, la distribución de botones y neuronas marcados con BDA se extendió desde los aspectos más laterales de la formación reticular, rodeando el toro semicircular y el techo óptico, a la línea media, rodeando los núcleos oculomotor y troclear. A este nivel, las áreas con mayor densidad de botones y neuronas se localizaron medialmente tras las inyecciones anteromediales (Fig. 4.3B) y lateralmente tras las inyecciones posteromediales (Fig. 4.4B). A nivel caudal del mesencéfalo (Figs. 4.3C y 4.4C) y a través de todo el rombencéfalo (Figs. 4.3D-F y 4.4D-F), la distribución de botones y neuronas fue similar para ambos tipos de



■ Alta densidad de botones
■ Baja densidad de botones
● Neuronas

Figura 4.3. Esquemas de secciones coronales del cerebro de la carpa dorada mostrando la distribución de neuronas marcadas retrógradamente (puntos) y campos de proyección de alta y baja densidad (áreas de color) a través del mesencéfalo (A-C) y rombencéfalo (D-F) después de una inyección de BDA en la zona tectal anteromedial. Abreviaturas: ABD, núcleo motor ocular externo; Cb, cerebelo; FRM, formación reticular del mesencéfalo; FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRI, formación reticular rombencefálica inferior; FRRS, formación reticular rombencefálica superior; Iny, sitio de inyección; LH, lóbulos hipotalámicos; LV, lóbulos vagales; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.



- Alta densidad de botones
- Baja densidad de botones
- Neuronas

Figura 4.4. Esquemas de secciones coronales de la carpa dorada mostrando la distribución de neuronas marcadas retrógradamente (puntos) y campos de proyección de alta y baja densidad (áreas de color) a través del mesencéfalo (A-C) y rombencéfalo (D-F) después de una inyección de BDA en la zona tectal posteromedial. Abreviaturas: ABD, núcleo motor ocular externo; Cb, cerebelo; FRM, formación reticular del mesencéfalo; FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRi, formación reticular rombencefálica inferior; FRRS, formación reticular rombencefálica superior; Iny, sitio de inyección; LH, lóbulos hipotalámicos; LV, lóbulos vagales; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

inyecciones. A nivel caudal, la distribución de botones y neuronas marcados se extendió desde los aspectos laterales de la formación reticular a la línea media (Figs. 4.3C y 4.4C), mostrando las áreas localizadas en los aspectos laterales una mayor densidad de botones marcados. En el rombencéfalo, los botones terminales y las neuronas marcadas retrógradamente se observaron en las áreas reticulares superior, medial e inferior (Figs. 4.3D-F y 4.4D-F). Aquí, los botones marcados anterógradamente y las neuronas marcadas retrógradamente ocuparon localizaciones diferentes en los lados homolateral y contralateral al sitio de inyección. Así, la región que contenía los campos terminales y las neuronas se situó más lateral en el lado homolateral que en el lado contralateral, donde se localizó cerca de la línea media. Finalmente, las distribuciones de los campos terminales y de las neuronas marcadas retrógradamente solaparon en las formaciones reticulares del mesencéfalo (Figs. 4.3A-C y 4.4A-C) y rombencéfalo (Figs. 4.3D-F y 4.4D-F).

La figura 4.5 y la tabla 4.1 resumen los datos recogidos en la formación reticular de los seis casos estudiados. Independientemente del sitio de inyección, los botones marcados fueron más abundantes en el mesencéfalo (79,2%) que en el rombencéfalo (20,8%) y fueron también más abundantes en el lado homolateral a la inyección (86,7%) que en el contralateral (13,3%). El número de neuronas marcadas retrógradamente fue mayor en el mesencéfalo (92,2%) que en el rombencéfalo (7,8%), y más abundante en el lado homolateral a la inyección (85,5%) que en el contralateral (14,5%).

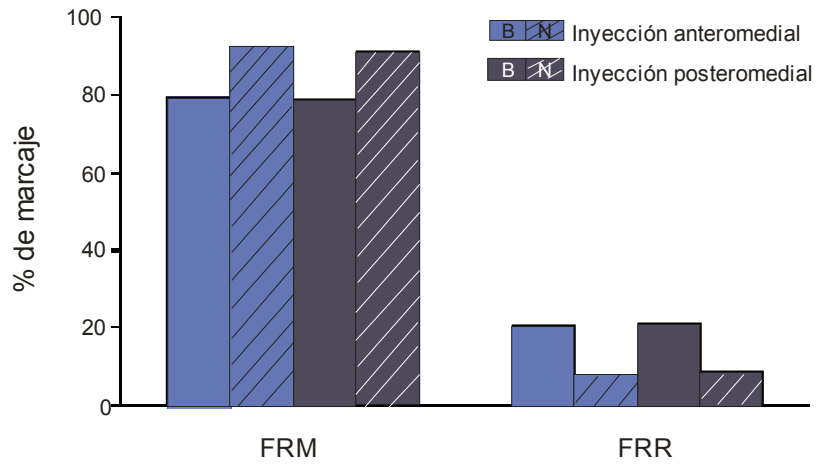


Tabla 4.1.

Estructuras	Inyecciones anteromediales		Inyecciones posteromediales	
	Botones	Neuronas	Botones	Neuronas
FRM				
Homolateral	19552,8±6049,1	65,1±26,6	25750,7±5471,1	69,1±4,8
Contralateral	2806,2±1173,9	14,0±5,5	2668,4±1127,9	8,9±4,5
FRRS				
Homolateral	1524,6±551,6	3,3±0,6	2636,3±236,9	3,7±0,9
Contralateral	411,1±255,7	0,3±0,3	338,1±114	0,3±0,3
FRRM				
Homolateral	815,6±510,9	1,7±0,3	1716,6±225,8	2,3±1,2
Contralateral	229,1±113,0	0,6±0,3	288,3±110,4	0,3±0,3
FRRl				
Homolateral	1710,3±67,87	0,3±0,3	1845,6±972,4	0,3±0,3
Contralateral	1003,6±446,7	0	756,1±120,4	0

Figura 4.5. Distribución de neuronas (N) y botones (B) en la formación reticular mesencefálica (FRM) y rombencefálica (FRR) tras las inyecciones tectales en las zonas anteromedial y posteromedial. El 100% corresponde al número total de neuronas o botones contados en cada grupo de experimentos.

Tabla 4.1. Número de botones y neuronas contados en las diferentes regiones reticulares tras las inyecciones tectales en las zonas anteromedial y posteromedial. Los datos indican la media \pm error estándar . Abreviaturas: FRM, formación reticular mesencefálica; FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRi, formación reticular rombencefálica inferior; FRRS, formación reticular rombencefálica superior.

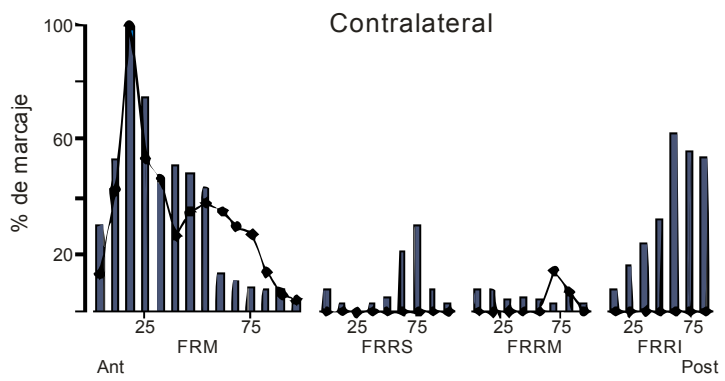
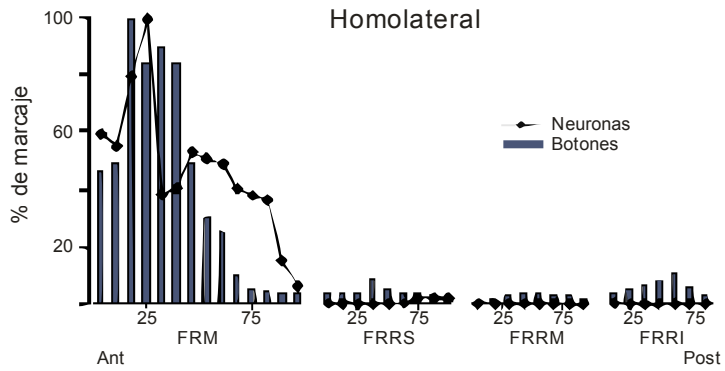
4.1.3. Conectividad topográfica entre el techo óptico y la formación reticular del mesencéfalo.

La figura 4.6 ilustra la distribución de botones y neuronas marcados a lo largo del eje anteroposterior de las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica. Esta distribución de botones y células marcados mostró una correspondencia topográfica, tanto homolateral como contralateralmente, entre el nivel del sitio de inyección y la formación reticular mesencefálica. Así, cuando el sitio de inyección se situó en la zona anteromedial, el número de botones y células (de ambos lados) fue mayor en el polo anterior (83,4% para los botones y 62,8% para las células) que en el polo posterior de la formación reticular mesencefálica. Cuando el sitio de inyección se localizó en la zona posteromedial, los botones (85,4%) y células (87,2%) fueron más numerosos en la zona posterior de la formación reticular mesencefálica que en la anterior.

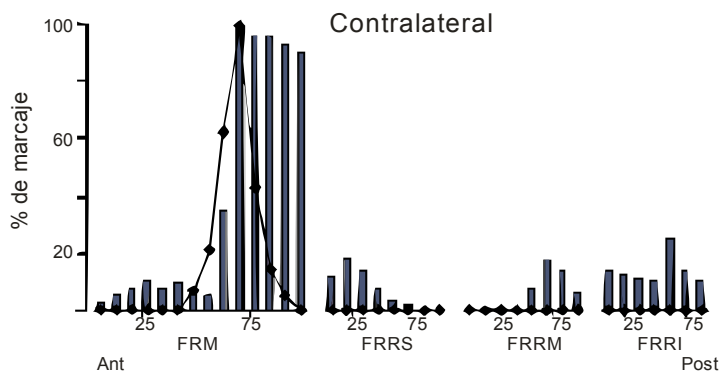
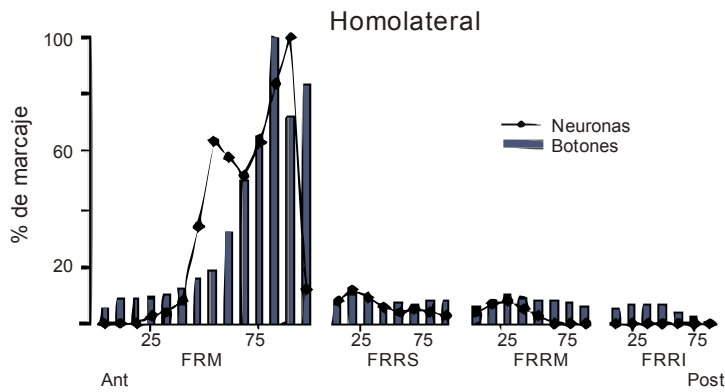
4.1.4. Diferencias cuantitativas en la conectividad del techo óptico con el rombencéfalo dependiendo del sitio de inyección.

Las células y botones marcados también se encontraron en diferentes regiones de la formación reticular rombencefálica siguiendo inyecciones en el techo óptico anteromedial y posteromedial (Fig. 4.6). No hubo relación topográfica evidente entre el sitio de inyección y la localización del marcaje en la formación reticular rombencefálica superior, medial o inferior. Con respecto al número total de botones y células encontradas en el rombencéfalo, incluyendo ambos lados de la formación reticular rombencefálica, en la región superior fue del 37% para los botones y del 58% para las células; en la región medial fue de 23% para los botones y del

INYECCIÓN ANTEROMEDIAL



INYECCIÓN POSTEROMEDIAL



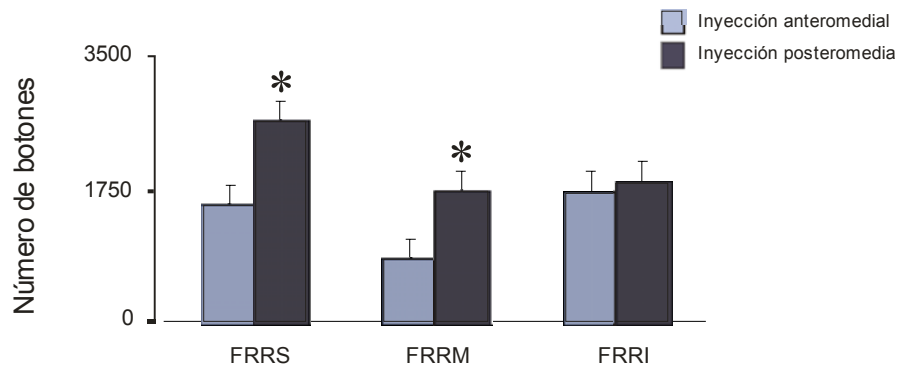
Distancia relativa al polo rostral de cada zona (%)

Figura 4.6. Distribución anteroposterior de botones y neuronas (ambos expresados como porcentaje del valor moda) en la formación reticular mesencefálica y rombencefálica después de inyecciones tectales en las zonas anteromedial y posteromedial. El valor moda se correspondió con el mayor número de botones o células encontrados en una sección. Abreviaturas: ant, anterior; post, posterior; FRM, formación reticular del mesencéfalo; FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRI, formación reticular rombencefálica inferior; FRRS, formación reticular rombencefálica superior.

37,4% para las células; y en la región inferior fue de 40% de los botones y un 4,6% de las células marcadas (Tabla 4.1).

Por otro lado, el número de botones dentro de la formación reticular rombencefálica superior y medial homolateral fue significativamente mayor ($p < 0,2$, ANOVA) tras las inyecciones tectales posteromediales (Fig. 4.7). En el lado contralateral, el número de botones fue mayor en la formación reticular superior e inferior tras las inyecciones anteromediales, mientras que en la zona medial, los botones fueron más numerosos tras las inyecciones posteromediales (Fig. 4.7; Tabla 4.1). El número de células marcadas en la formación reticular del rombencéfalo fue bastante bajo, y similar para las inyecciones anteromediales y posteromediales.

Homolateral



Contralateral

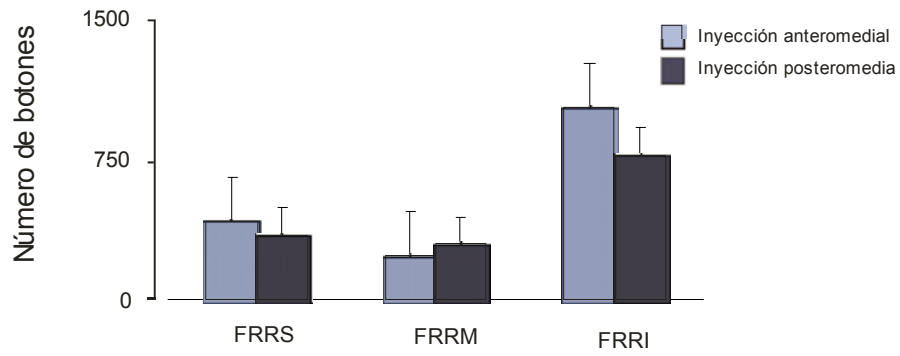


Figura 4.7. Distribución de botones en las diferentes áreas reticulares rombencefálicas, tanto homolaterales como contralaterales a las zonas tectales inyectadas anteromedial y posteromedial. Las barras representan el error estándar. Los asteriscos indican el nivel de significación estadístico ($p < 0,2$, ANOVA). Abreviaturas: FRRM, formación reticular rombencefálica medial; FRRI, formación reticular rombencefálica inferior; FRRS, formación reticular rombencefálica superior.

4.2. Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo.

4.2.1. Localización de los sitios de microestimulación.

Para llevar a cabo este segundo objetivo se procedió a la estimulación de diferentes sitios localizados a lo largo de los ejes rostrocaudal, dorsoventral y mediolateral de la formación reticular mesencefálica (Fig. 4.8A). En el eje anteroposterior, la microestimulación eléctrica se realizó desde la región caudal a la comisura posterior, en la región mesodiencefálica, hasta el polo caudal del núcleo del istmo, que se corresponde con la zona de transición entre el mesencéfalo y rombencéfalo. El límite lateral de la formación reticular mesencefálica fue la capa tectal más profunda, mientras que el límite medial fue la línea media. Los aspectos dorsales de la formación reticular mesencefálica se correspondieron con la zona situada bajo el ventrículo, rodeando a la válvula del cerebelo y al toro semicircular, mientras que el límite ventral fue el tracto tectobulbar. Tras la estimulación eléctrica se procedió a marcar la zona estimulada mediante microlesiones electrolíticas. La figura 4.8B muestra dos de estos sitios (flechas), separados en el eje mediolateral, a nivel del núcleo oculomotor (la fotomicrografía 4.8C es un detalle de 4.8B).

4.2.2. Movimientos oculares producidos por la estimulación de la formación reticular del mesencéfalo: Características generales.

La microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica en peces produjo movimientos de diferentes partes del cuerpo. Así, se produjeron movimientos oculares, orofaciales (los cuales incluyen desplazamientos de la boca y/o el opérculo), de músculos axiales y de las aletas pectorales y caudales. En este estudio, sólo se consideraron aquellos sitios de la formación reticular mesencefálica

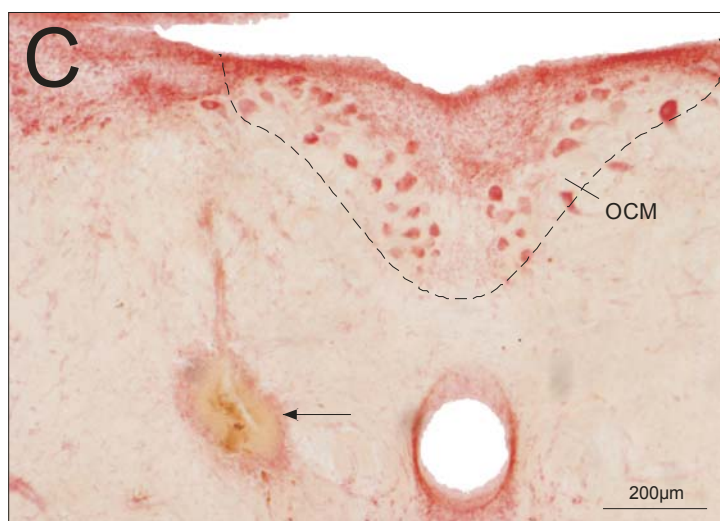
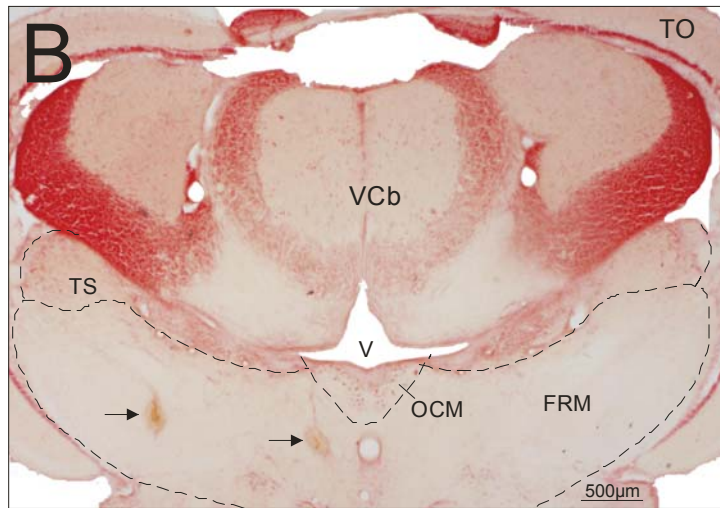
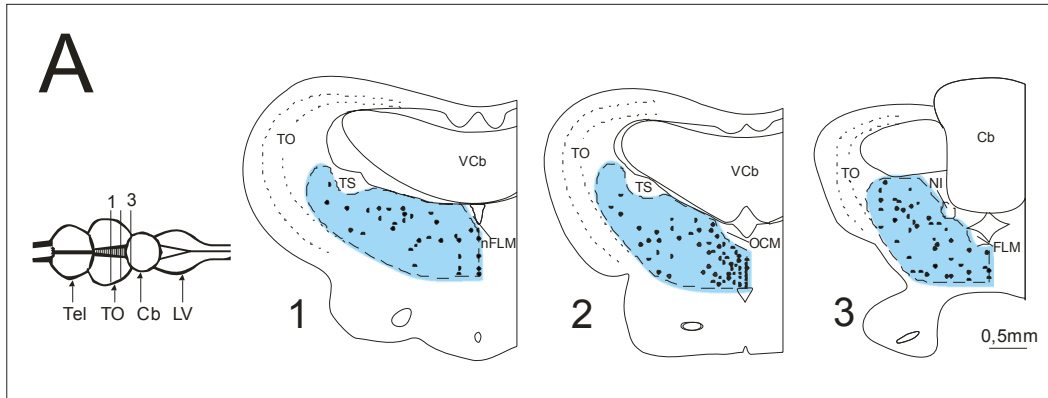


Figura 4.8. Representación de los sitios estimulados en la formación reticular mesencefálica (FRM). **A.** Esquemas de secciones coronales correspondientes a niveles representativos anterior, medial y posterior mostrando los sitios de estimulación (puntos). La zona coloreada representa la formación reticular mesencefálica. A la izquierda se muestra sobre una visión dorsal del cerebro el nivel de las secciones coronales. **B.** Fotomicrografías mostrando la localización de dos sitios de estimulación (flechas), a nivel del núcleo oculomotor (OCM), identificados mediante lesiones electrolíticas. La línea discontinua delimita la formación reticular mesencefálica. **C.** Detalle del sitio de estimulación mostrado en B adyacente al núcleo oculomotor. Abreviaturas: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; V, ventrículo; VCb, válvula del cerebelo.

que produjeron exclusivamente movimientos oculares a una intensidad de 1,25 supraumbral.

Los movimientos obtenidos se caracterizaron por ser repetitivos, es decir que, tras la estimulación de un mismo sitio y utilizando los mismos parámetros de estimulación, los movimientos presentaron amplitudes, latencias, duraciones y velocidades semejantes, tanto en su componente horizontal como vertical (Fig. 4.9A). Tras la estimulación eléctrica, la mayoría de los movimientos (85%) fueron disyuntivos (Fig. 4.9B, C), es decir, cada ojo se movió con una amplitud y/o dirección ligeramente diferente; en algunos casos (15%) los movimientos oculares obtenidos fueron monoculares. Los movimientos oculares se dirigieron, en su componente horizontal, hacia los lados contralateral u homolateral en relación al sitio estimulado; su componente vertical se dirigió tanto hacia arriba como hacia abajo (Fig. 4.9D, E). Los movimientos se representaron de forma que los dirigidos hacia arriba tenían ángulos positivos y los dirigidos hacia abajo tenían ángulos negativos; los movimientos homolaterales se representaron en el cuadrante de 0° a 90° y los contralaterales de 90° a 180° (Fig. 4.8D). Del total de movimientos estudiados (Fig. 4.8E), el número de sacádicos contralaterales (47) fue similar al de homolaterales (45), mientras que los movimientos dirigidos hacia arriba (46) fueron más abundantes que hacia abajo (26).

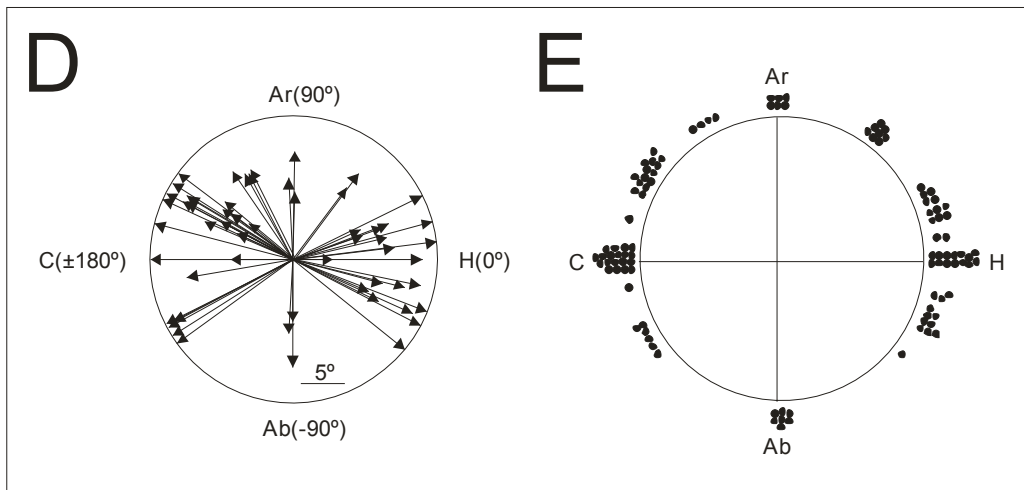
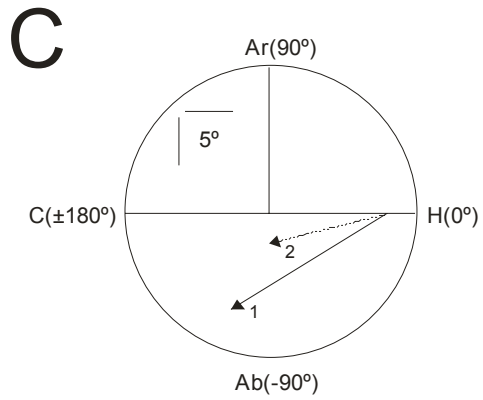
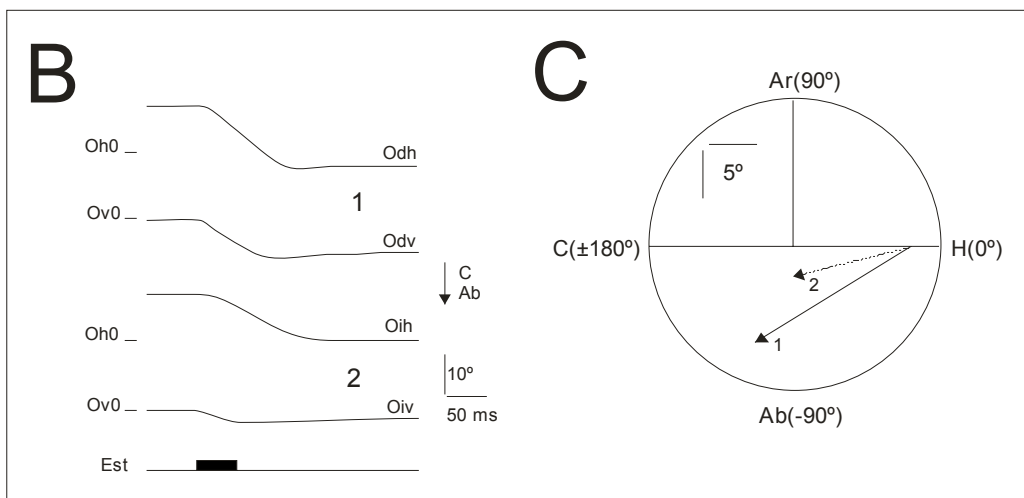
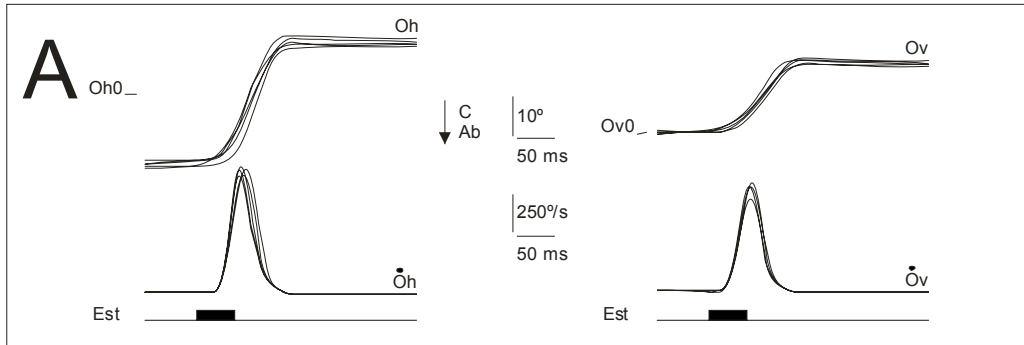


Figura 4.9. Características generales de los movimientos oculares producidos por microestimulación desde la formación reticular del mesencéfalo. **A.** Movimientos oculares estereotipados obtenidos tras la estimulación de un sitio manteniendo inalterados los parámetros. A la izquierda, se representa el curso temporal del componente horizontal (Oh) del movimiento ocular, así como el de la velocidad (Oh) de dicho componente. A la derecha, se representa el curso temporal del componente vertical (Ov) del movimiento ocular, así como el de la velocidad (Ov) de dicho componente. **B.** Curso temporal de un movimiento ocular disyuntivo mostrando el movimiento del ojo derecho (1) e izquierdo (2). **C.** Representación vectorial de los movimientos mostrados en B. **D.** Representación del vector del movimiento sacádico medio obtenido tras la estimulación desde diferentes sitios de la formación reticular mesencefálica. Se representan todos los vectores obtenidos excepto aquellos de la misma amplitud y trayectoria. Los movimientos oculares dirigidos hacia arriba se representan con ángulos positivos y aquellos dirigidos hacia abajo tienen ángulos negativos. Los movimientos oculares homolaterales se representan entre 0° y 90° y los movimientos oculares contralaterales entre 90° y 180° . **E.** Distribución de los movimientos oculares según su dirección. Cada punto corresponde al vector representativo obtenido desde cada sitio. Abreviaturas: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Odh y Odv, posiciones del componente horizontal y vertical del ojo derecho; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente; Oih y Oiv, posiciones del componente horizontal y vertical del ojo izquierdo, respectivamente. Calibraciones como se indican.

4.2.3. Influencia del sitio de estimulación sobre la dirección del movimiento sacádico.

La figura 4.10 muestra la influencia de la localización de los sitios de estimulación a lo largo de los ejes anteroposterior (A, B), mediolateral (C, D) y dorsoventral (E, F) de la formación reticular mesencefálica sobre la dirección de todos los movimientos sacádicos producidos. En el eje anteroposterior, la dirección de los movimientos varió entre 0° y 90° en el polo anterior de dicha estructura, mientras que varió entre 0° y 45° en el polo posterior (Fig. 4.10A). La regresión lineal de estos datos mostró una tendencia significativa a disminuir la dirección del vector a lo largo del eje anteroposterior (dirección del vector = $56,8^\circ - 0,51$ eje anteroposterior; $r = 0,42$; $p < 0,001$). La influencia de este eje sobre la dirección del vector también se observó cuando la formación reticular mesencefálica se dividió en tercios, siendo mayor la dirección media del vector en la zona anterior y disminuyendo hacia el tercio posterior (Fig. 4.10B). Esta tendencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$; ANOVA), independientemente de que su dirección preferente fuese homolateral o contralateral, hacia arriba o hacia abajo. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas a lo largo de los ejes mediolateral y dorsoventral (Fig. 4.10C-F).

Estos últimos resultados permiten sugerir la presencia dentro de la formación reticular mesencefálica de los peces de regiones implicadas en la generación de movimientos oculares sacádicos con diferentes direcciones preferentes (vertical, horizontal u oblicua). La figura 4.11 estudia la distribución de los movimientos verticales, horizontales y oblicuos a lo largo de los diferentes ejes. Los movimientos

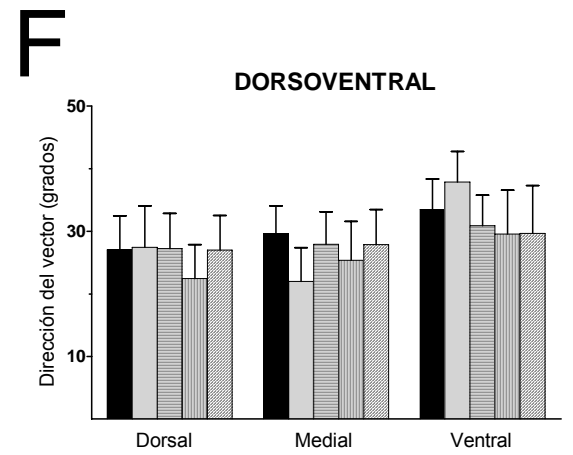
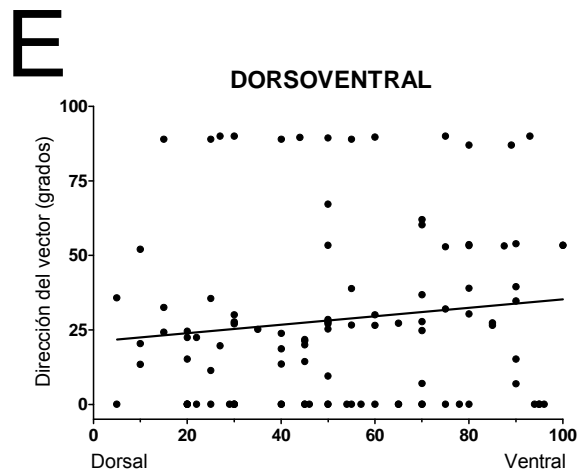
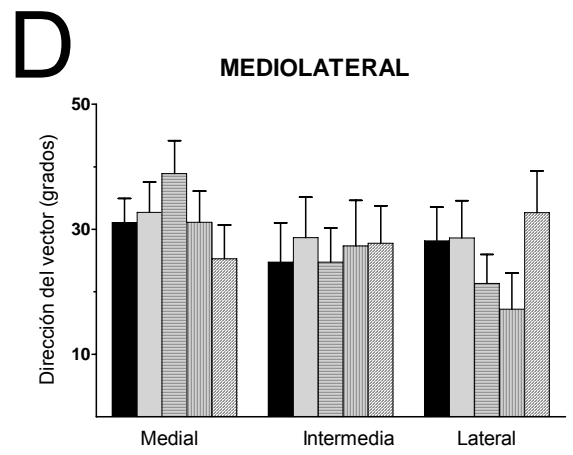
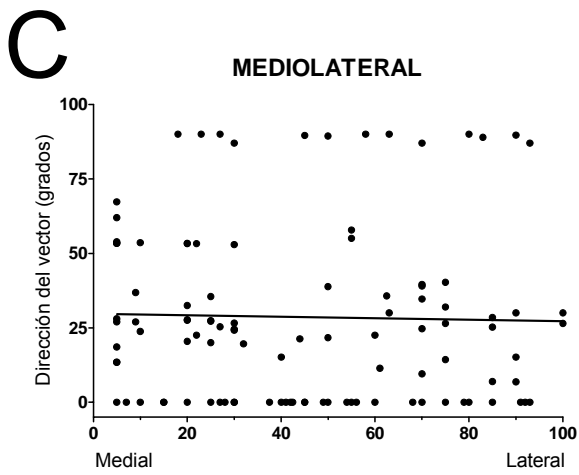
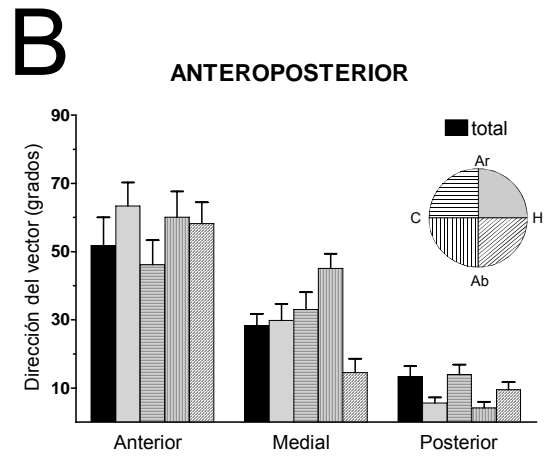
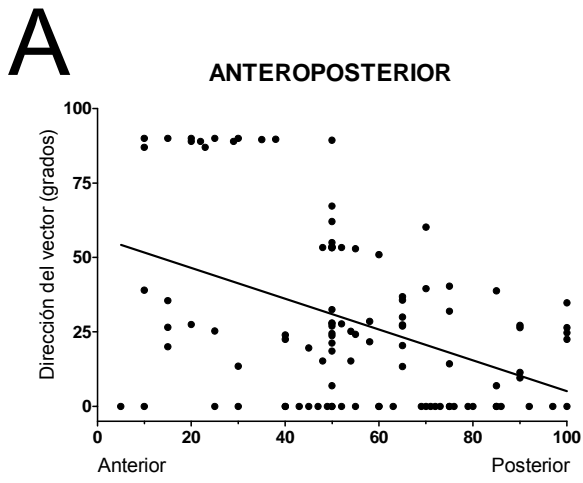


Figura 4.10. Variación del vector de dirección de los movimientos oculares sacádicos representativos con los ejes anteroposterior, mediolateral y dorsoventral de la formación reticular mesencefálica. **A, C, E.** Representación de los vectores de dirección representativos obtenidos tras la estimulación eléctrica de sitios a lo largo de los ejes anteroposterior, mediolateral y dorsoventral. Al no existir diferencias significativas entre los movimientos oculares dirigidos a cada sector de la órbita (ver partes B, D y F de la figura), la dirección de los vectores se muestra en valor absoluto, independientemente de si son homolaterales o contralaterales, dirigidos hacia arriba o hacia abajo. **B, D, F.** Representación de los vectores de dirección medio \pm error estándar dividiendo la formación reticular mesencefálica en tercios. Para obtener los valores representados, los ángulos de los vectores dirigidos a cada sector de la órbita del ojo (círculo representado en la parte superior derecha de la figura) se agruparon. Abreviaturas: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; H, homolateral.

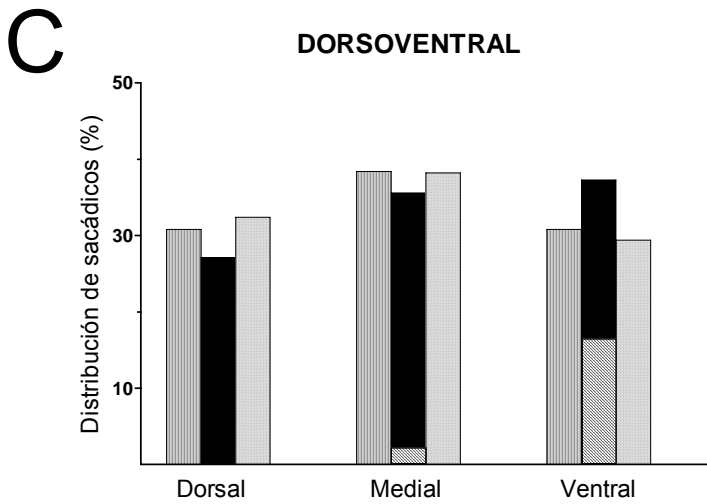
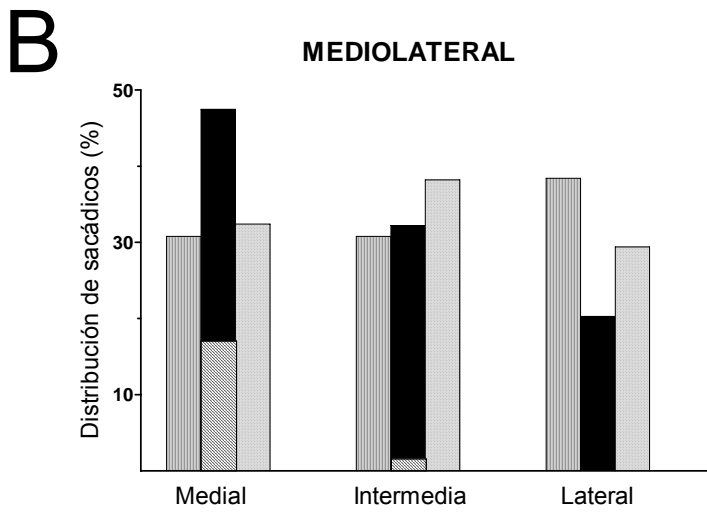
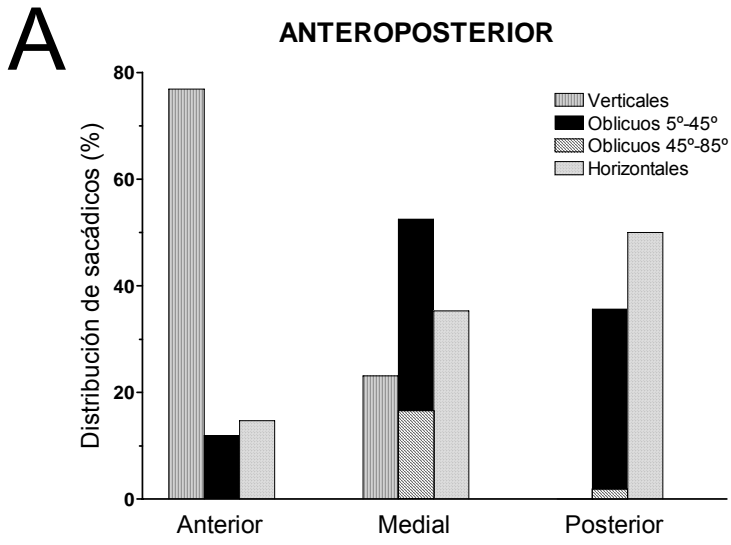


Figura. 4.11. Distribución de los movimientos oculares verticales puros, horizontales puros y oblicuos a lo largo de los ejes anteroposterior (A), mediolateral (B), y dorsoventral (C). Cada eje se dividió en tercios y se representó el porcentaje de cada tipo de movimiento ocular.

oculares sacádicos verticales puros se produjeron principalmente tras la estimulación de sitios localizados en el tercio rostral (76,9%), aunque también se obtuvieron desde sitios localizados en la zona medial (23,1%; Fig. 4.11A). Por el contrario, los sitios desde los que se produjeron movimientos oculares horizontales puros fueron menos numerosos en la región anterior (14,7%), y aumentaron hacia las regiones medial (35,3%) y posterior (50%). Los sitios que produjeron movimientos verticales y horizontales puros se distribuyeron de forma similar a lo largo de los ejes mediolateral (Fig. 4.11B) y dorsoventral (Fig.4.11C). Los movimientos oculares sacádicos oblicuos se produjeron principalmente desde sitios localizados en el área medial (52,7%), en comparación con los localizados en las regiones anterior (11,9%) y posterior (35,4%; Fig. 4.11A). Además, los sitios desde los que se produjeron movimientos oculares oblicuos mostraron una tendencia a estar cercanos a la línea media (Fig. 4.11B). Así, éstos fueron de 47,5%, 32,2% y 20,3% desde los aspectos mediales a laterales. No se observó ninguna diferencia en la distribución de movimientos oculares oblicuos a lo largo del eje dorsoventral de la formación reticular mesencefálica (Fig. 4.11C).

De acuerdo con la localización de los sitios desde los que se produjeron los movimientos oculares sacádicos y su dirección preferente, los movimientos oculares se dividieron en varios grupos: verticales puros (n=13), horizontales puros (n=33) y oblicuos (n=59). A su vez, los movimientos oculares oblicuos se subdividieron en oblicuos de 5° - 45° (n=47) y oblicuos de 45° - 85° (n=12), con el fin de determinar posibles diferencias entre movimientos oculares oblicuos con un predominante componente horizontal o vertical. El análisis estadístico entre los grupos mostró

diferencias significativas en cuanto a la dirección ($p < 0,01$; ANOVA). Además de estos tipos de movimientos también se produjeron movimientos sacádicos convergentes ($n=15$) y dirigidos a una meta ($n=19$).

4.2.4. Tipos de movimientos oculares sacádicos.

Movimientos oculares verticales puros.

Estos movimientos se encontraron tanto dirigidos hacia arriba (6/139) como hacia abajo (7/139). Se produjeron principalmente desde el tercio anterior (10/139) de la formación reticular mesencefálica (es decir, la región adyacente al núcleo del fascículo longitudinal medial). Otros sitios desde los que se produjeron este tipo de movimientos oculares se situaron cerca de los aspectos rostrales del núcleo oculomotor (3/139; Fig. 4.12A).

Los movimientos verticales puros dirigidos hacia arriba mostraron una latencia de $17,5 \pm 0,6$ ms, su duración fue de $41 \pm 2,9$ ms, y su amplitud fue de $8,5^\circ \pm 1,0^\circ$ para el componente vertical (Fig. 4.12B, C). Estos movimientos no mantuvieron la posición final del ojo cuando el estímulo aplicado fue de corta duración (50 ms); sin embargo, cuando se aumentó la duración del estímulo, por ejemplo a 250 ms, el ojo mantuvo la posición final en la órbita hasta el final del tren de estimulación (Fig. 4.12B). La posición inicial del ojo en la órbita no tuvo influencia ni sobre la dirección (Fig. 4.12D) ni sobre la amplitud del movimiento.

Los movimientos verticales puros dirigidos hacia abajo mostraron características similares a los dirigidos hacia arriba. Así, este tipo de movimientos

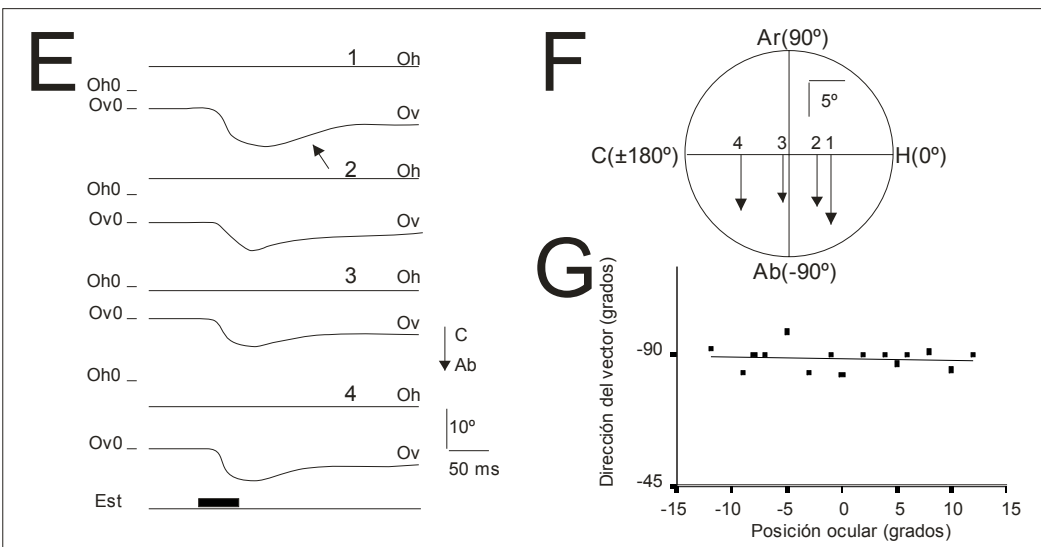
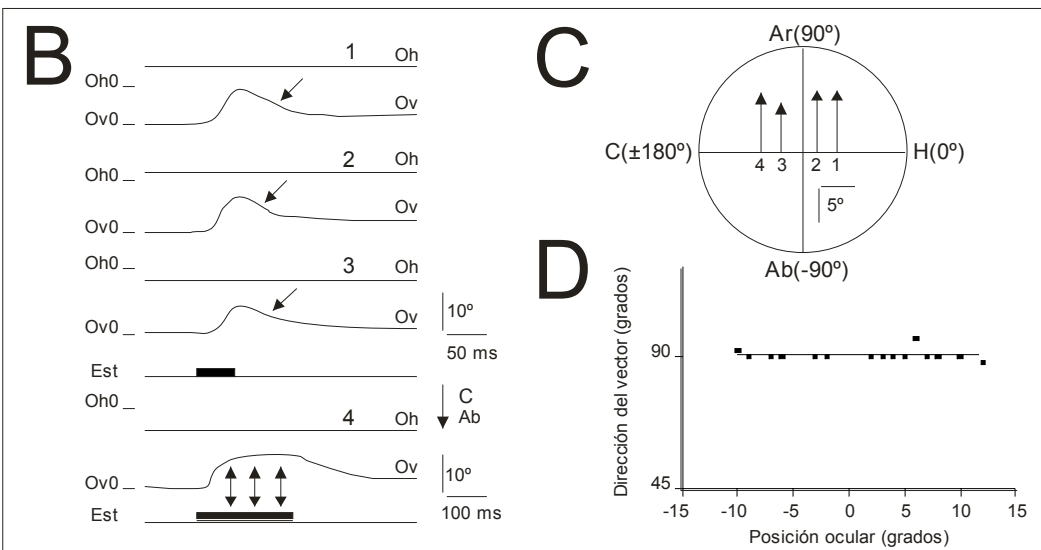
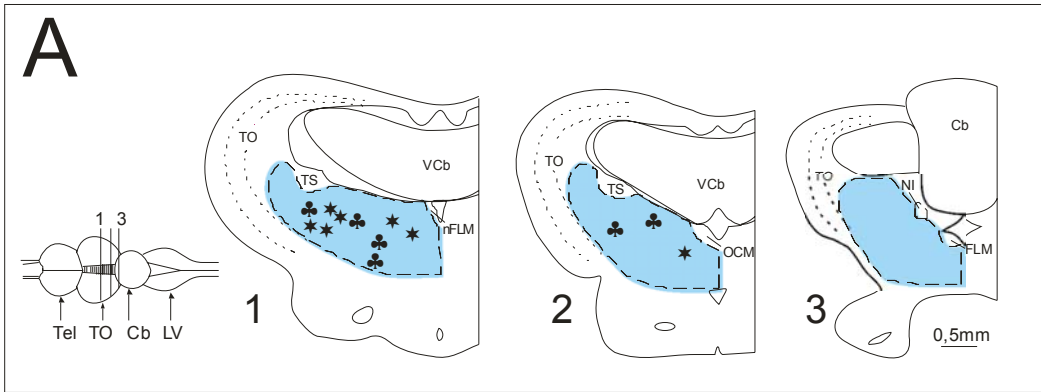


Figura 4.12. Características de los movimientos oculares verticales puros. **A.** Esquema de secciones coronales correspondientes a los mismos niveles representados en la figura 4.8A. Los asteriscos se corresponden con los sitios cuya estimulación eléctrica produjo movimientos verticales puros dirigidos hacia abajo y los tréboles señalan los sitios desde las que se produjeron movimientos verticales dirigidos hacia arriba. **B.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos oculares representativos (1-4) verticales puros dirigidos hacia arriba que partieron desde diferentes posiciones iniciales. Las flechas en los movimientos 1-3 indican como el componente vertical del movimiento ocular retornó a su posición inicial tras el estímulo, mientras que las flechas en el caso 4 indican como el ojo mantuvo su posición final en la órbita mientras duró el estímulo. **C.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). **D.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el vector de dirección de estos movimientos oculares sacádicos. **E.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal y vertical de cuatro movimientos oculares verticales puros dirigidos hacia abajo que partieron desde diferentes posiciones iniciales del ojo en la órbita. La flecha en el movimiento 1 indica como el ojo volvió a su posición inicial tras el estímulo eléctrico. **F.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). **G.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el vector de dirección de este tipo de movimientos oculares. Abreviaturas en A: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Abreviaturas en B-G: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

mostró una latencia de $21,3 \pm 2,1$ ms, una duración de $44,9 \pm 1,5$ ms, y una amplitud de $8,1^\circ \pm 1,1^\circ$ (Fig. 4.12E). Al igual que ocurrió con el anterior grupo de movimientos, éstos tampoco mantuvieron la posición final del ojo tras un estímulo de corta duración, pero si cuando el estímulo fue de larga duración (Fig. 4.12E, F). De nuevo la posición inicial del ojo en la órbita no tuvo efecto ni sobre la dirección del movimiento (Fig. 4.12G) ni sobre la amplitud.

Tanto para los movimientos verticales puros dirigidos hacia arriba como hacia abajo, no hubo influencia de la localización del sitio de estimulación a lo largo de ningún eje sobre la amplitud del movimiento (Fig. 4.14).

Movimientos oculares horizontales puros.

En este grupo de movimientos sacádicos se encontraron tanto homolaterales (14/139) como contralaterales (19/139). Los movimientos horizontales puros se produjeron principalmente desde sitios localizados en el tercio posterior de la formación reticular mesencefálica, es decir a nivel caudal del núcleo oculomotor, aunque en algunos casos se situaron más rostrales (Fig. 4.13A).

Los movimientos horizontales puros dirigidos homolateralmente presentaron una latencia de $34,2 \pm 1,9$ ms, una duración de $41,2 \pm 2,0$ ms y una amplitud de $10,2^\circ \pm 0,8^\circ$ para el componente horizontal (Fig. 4.13B, C). La posición final del ojo se mantuvo estable incluso cuando el estímulo fue de corta duración (Fig. 4.13B, C). Como en los casos anteriores, tampoco hubo efecto de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la dirección (Fig. 4.13D) o amplitud de este tipo de movimientos.

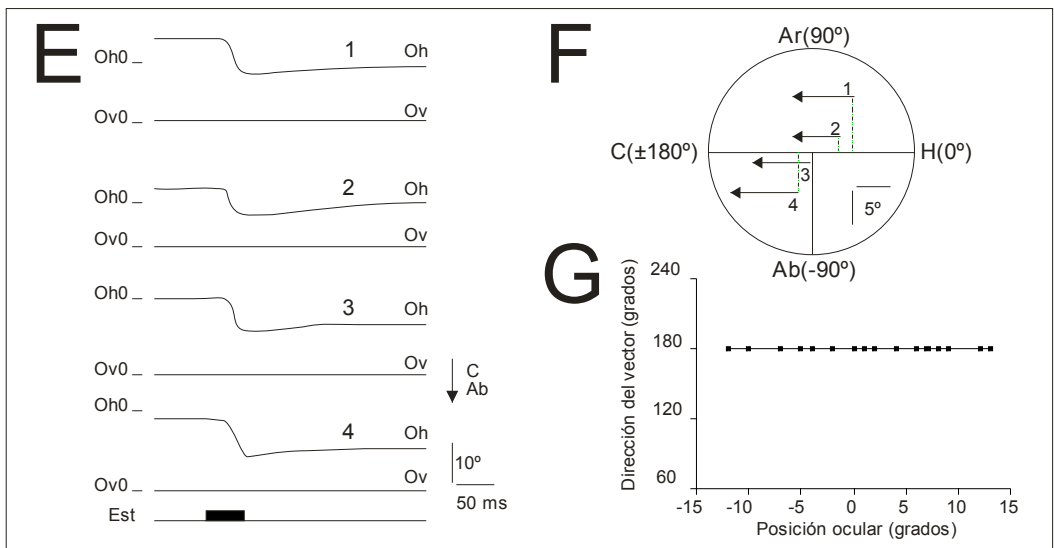
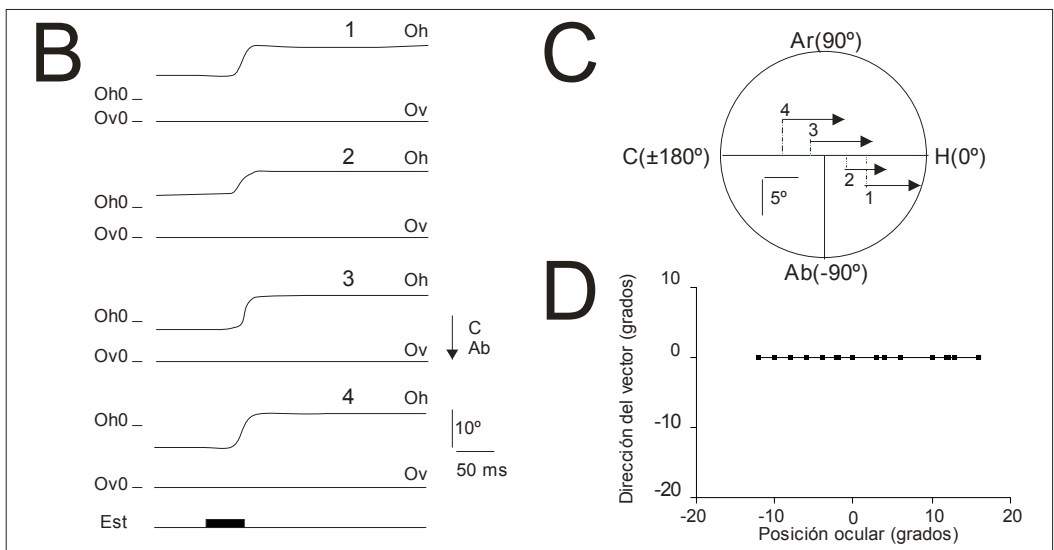
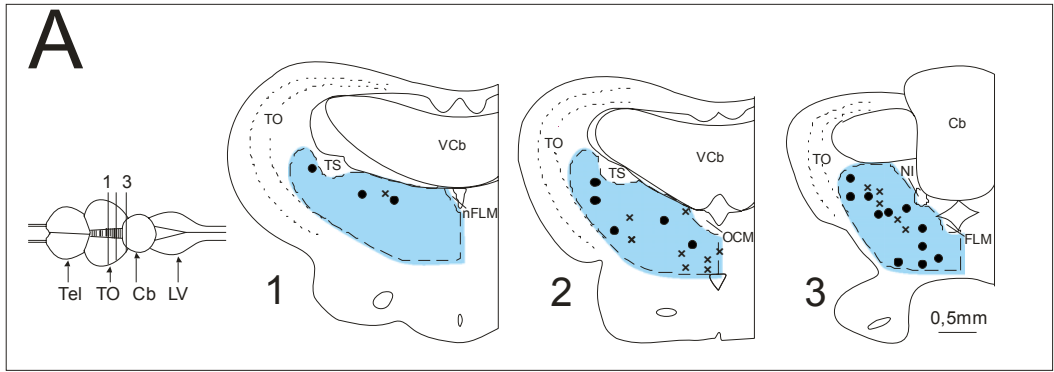


Figura 4.13. Características de los movimientos oculares horizontales puros. **A.** Esquema de secciones coronales correspondientes a los mismos niveles representados en la figura 4.8A. Los puntos se corresponden con sitios cuya estimulación eléctrica produjo movimientos horizontales puros contralaterales y las cruces se corresponden con sitios cuya estimulación produjo movimientos horizontales puros homolaterales. **B.** Representación del curso temporal del componente horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) horizontales puros homolaterales representativos, que partieron de diferentes posiciones iniciales. **C.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos sacádicos(1-4). **D.** Efecto de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el vector de dirección de los movimientos oculares pertenecientes a este grupo. **E.** Representación del curso temporal del componente horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) horizontales puros contralaterales representativos que partieron de diferentes posiciones iniciales del ojo en la órbita. **F.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares(1-4). **G.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el vector de dirección de movimientos pertenecientes a este grupo. Abreviaturas en A: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Abreviaturas en B-G: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

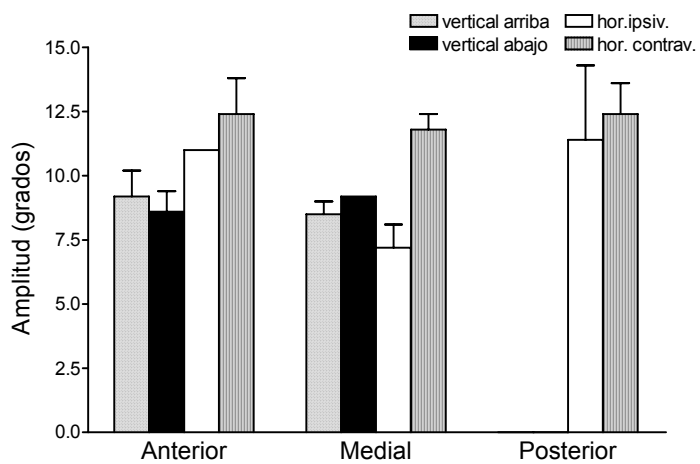
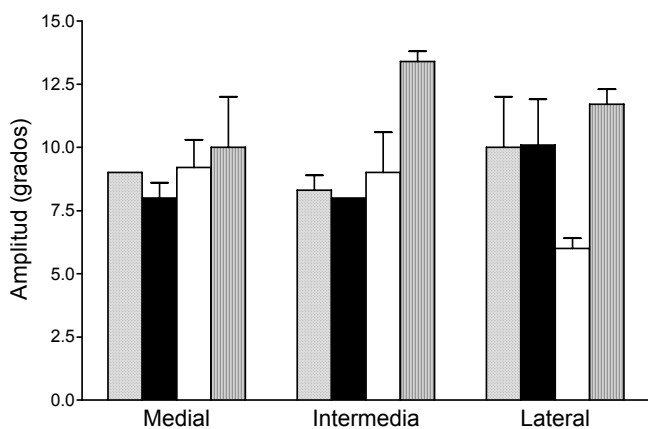
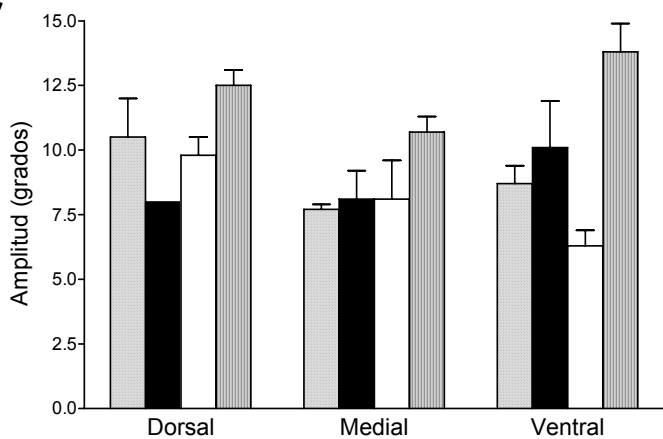
A**ANTEROPOSTERIOR****B****MEDIOLATERAL****C****DORSOVENTRAL**

Figura 4.14. Influencia del sitio de estimulación a lo largo de los ejes de la formación reticular mesencefálica (dividida en tercios) sobre la amplitud de los movimientos oculares verticales y horizontales puros.

Además, la amplitud de estos movimientos sacádicos homolaterales no se afectó a lo largo de los ejes anteroposterior, mediolateral o dorsoventral (Fig. 4.14) En algunos sitios de estimulación (5%), tras la aplicación de un estímulo de larga duración (250-500 ms), se produjo una escalera de dos o tres movimientos oculares sacádicos.

Los movimientos horizontales puros contralaterales mostraron una latencia de $26,7 \pm 3,4$ ms, una duración de $34,3 \pm 1,9$ ms y una amplitud de $12,5^\circ \pm 1,5^\circ$ (Fig. 4.13E, F). Al igual que en el caso de los movimientos oculares horizontales dirigidos hacia el lado del sitio estimulado, los movimientos sacádicos horizontales contralaterales mantuvieron la posición final del ojo en la órbita tras la estimulación eléctrica (Fig. 4.13E). Tampoco se observó efecto de la posición inicial del ojo sobre la dirección (Fig. 4.13G) o la amplitud del movimiento ocular. Además, tampoco se encontró influencia de los ejes rostrocaudal, mediolateral y dorsoventral sobre la amplitud del movimiento ocular (Fig. 4.14).

Movimientos oculares oblicuos.

La estimulación de la formación reticular del mesencéfalo produjo también movimientos oblicuos con una amplia variedad de direcciones. Así, dentro de este tipo de movimientos se distinguieron dos grupos, según la dirección del movimiento: un primer grupo con un componente horizontal mayor que el vertical, que denominamos grupo entre $5^\circ - 45^\circ$; y un segundo grupo con un componente vertical mayor que el horizontal, que denominamos grupo entre $45^\circ - 85^\circ$.

En el grupo de movimientos oculares oblicuos $5^\circ - 45^\circ$ se pudo distinguir entre movimientos homolaterales (25/139) y contralaterales (22/139). Estos movimientos se encontraron principalmente en el tercio medial de la formación reticular mesencefálica (Figs. 4.11A y 4.15A), es decir a lo largo del núcleo oculomotor, aunque también se encontraron rostrales y caudales a este núcleo (Fig. 4.15A).

El componente horizontal de los movimientos homolaterales oblicuos de $5^\circ - 45^\circ$ mostró una latencia de $29,3 \pm 1,6$ ms, una duración de $41 \pm 2,2$ ms y una amplitud de $10,2^\circ \pm 0,6^\circ$. El componente vertical presentó una latencia de $43,7 \pm 2,3$ ms, una duración de $32 \pm 2,3$ ms y una amplitud de $4,8^\circ \pm 0,5^\circ$ (Fig. 4.15B). La dirección media del movimiento fue de $19,8^\circ \pm 2,4^\circ$, cuando el movimiento se dirigió hacia arriba y de $-25,3^\circ \pm 1,5^\circ$ cuando se dirigió hacia abajo (Fig. 4.15C). Este tipo de movimientos mantuvo la posición final del ojo sólo en su componente horizontal (Fig. 4.15B, C). La amplitud de los movimientos oblicuos homolaterales mostró una dependencia de la posición inicial del ojo en la órbita (tanto del componente horizontal como del vertical del movimiento). En el ejemplo ilustrado en la figura 4.15D, la amplitud del componente horizontal se modificó linealmente con la posición inicial del ojo (amplitud = $10,5^\circ - 0,7$ posición inicial; $r = 0,99$; $p < 0,0001$).

La latencia del componente horizontal de los movimientos contralaterales oblicuos de $5^\circ - 45^\circ$ fue de $17,9 \pm 2,4$ ms, la duración de 29 ± 2 ms y la amplitud de $12,9^\circ \pm 1^\circ$. El componente vertical mostró una latencia de $17,1 \pm 1,9$ ms, una duración de $31 \pm 1,5$ ms y una amplitud de $6,6^\circ \pm 0,5^\circ$. La dirección media fue de $152,2^\circ \pm 2,2^\circ$, cuando el movimiento ocular se dirigió hacia arriba (Fig. 4.15E, F) y de

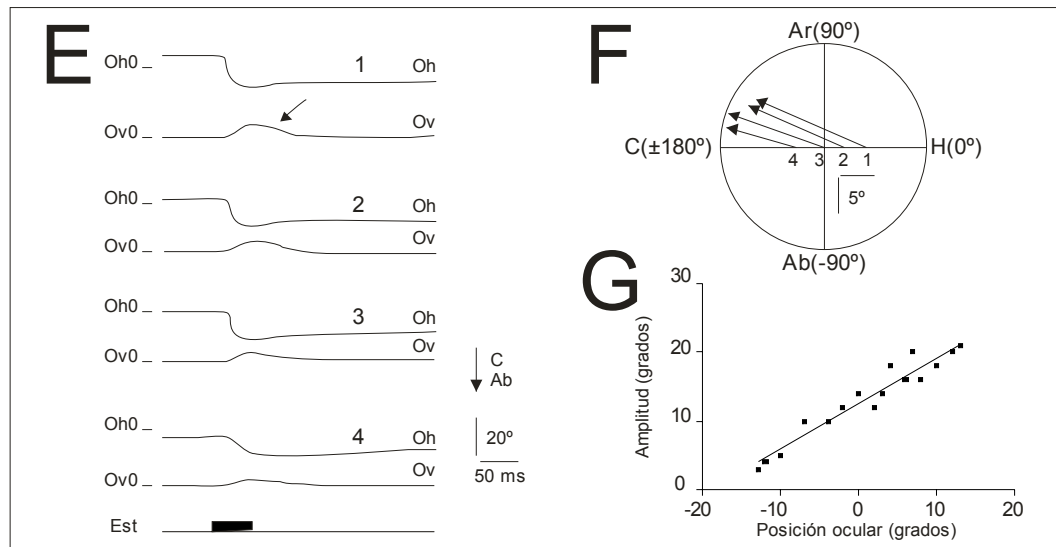
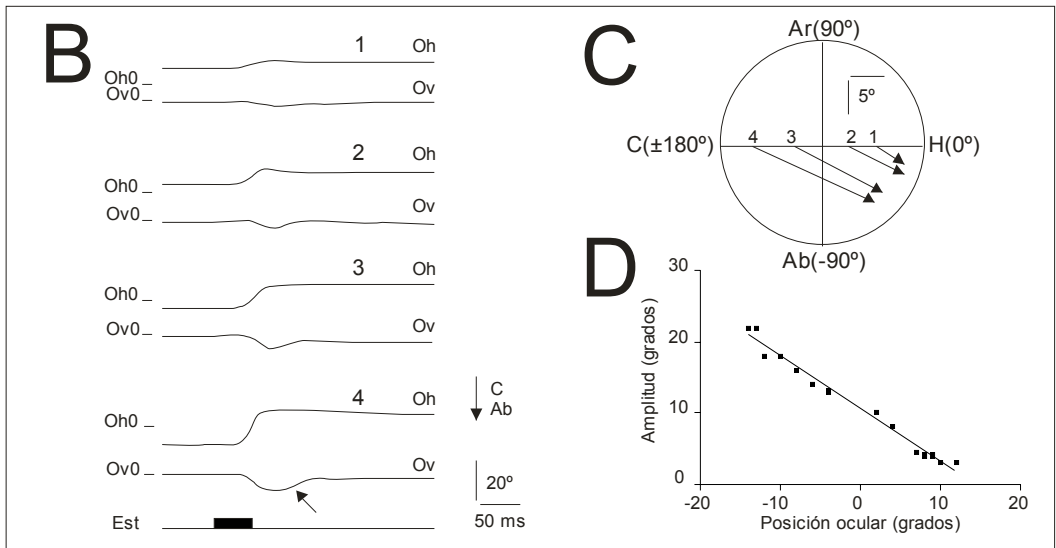
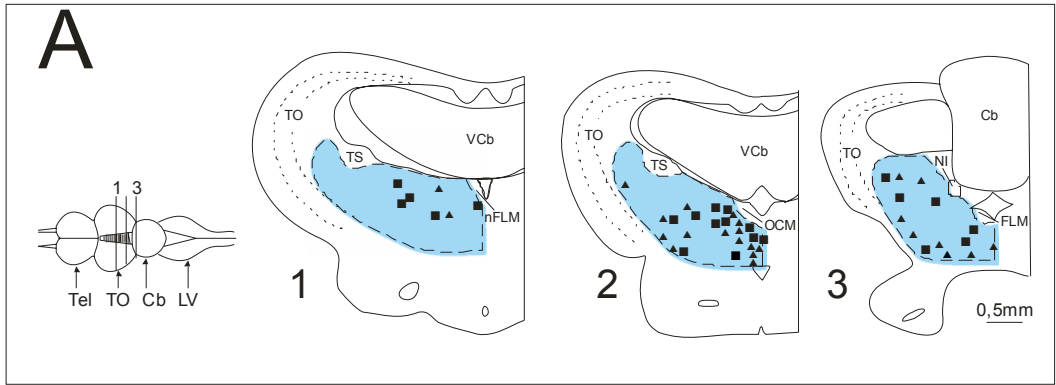


Figura 4.15. Características de los movimientos oculares oblicuos cuyo vector de dirección se encontró comprendido entre 5° - 45° . **A.** Esquema de secciones coronales correspondientes a los mismos niveles representados en la figura 4.8A. Los triángulos se corresponden con sitios desde los que se produjeron movimientos oblicuos de 5° - 45° homolaterales, y los cuadrados se corresponden con sitios desde los que se produjeron movimientos oblicuos de 5° - 45° contralaterales. **B.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) oculares oblicuos de 5° - 45° homolaterales representativos que partieron de diferentes posiciones iniciales. **C.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). **D.** Efecto de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud del componente horizontal de este grupo de movimientos. **E.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) oculares oblicuos de 5° - 45° contralaterales representativos que partieron de diferentes posiciones iniciales. **F.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos sacádicos (1-4). **G.** Efecto de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud del componente horizontal de este grupo de movimientos. Las flechas en B y E indican como el componente vertical del movimiento ocular volvió al meridiano horizontal del ojo después del estímulo. Abreviaturas en A: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Abreviaturas en B-G: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

-152,3° ± 1,3° cuando dicho movimiento se dirigió hacia abajo. En este tipo de movimiento, el componente horizontal mantuvo la posición final del ojo, mientras que el componente vertical no (Fig. 4.15E). La amplitud del movimiento, horizontal y vertical, dependió de la posición inicial del ojo en la órbita. Para el ejemplo mostrado en la figura 4.15G, amplitud horizontal = 12,3° + 0,6 posición inicial (r = 0,9; p<0,0001).

Dentro del grupo de movimientos oblicuos 45° - 85° se encontraron tanto homolaterales (8/135) como contralaterales (4/135). Este tipo de movimientos se encontró casi exclusivamente en la porción medial de la formación reticular mesencefálica (Figs. 4.11A y 4.16A). En su mayoría, estos sitios se localizaron cercanos a la línea media (Figs. 4.11B y 4.16A), en la porción más ventral de la formación reticular mesencefálica (Figs. 4.11C y 4.16A).

La latencia del componente horizontal de los movimientos homolaterales de este grupo fue de 37,6 ± 1,3 ms, la duración de 39,6 ± 1,2 ms y la amplitud de 6° ± 0,5°. En el caso del componente vertical, la latencia fue de 16,9 ± 1,1 ms, la duración de 35,2 ± 1,7 ms y la amplitud de 8,9° ± 0,6° (Fig. 4.15B). Los movimientos de 45° - 85° grados se encontraron dirigidos exclusivamente hacia arriba, siendo la dirección media de 53,4° ± 5°. En estos movimientos se mantuvo la posición final del ojo, pero sólo en el caso del componente horizontal (Fig. 4.15B). La posición inicial del ojo en la órbita afectó a la amplitud de ambos componentes, horizontal y vertical, de este tipo de movimiento ocular (amplitud vertical = 6,8° + 0,2 posición inicial; r = 0,96; p<0,0001; Fig. 4.16D).

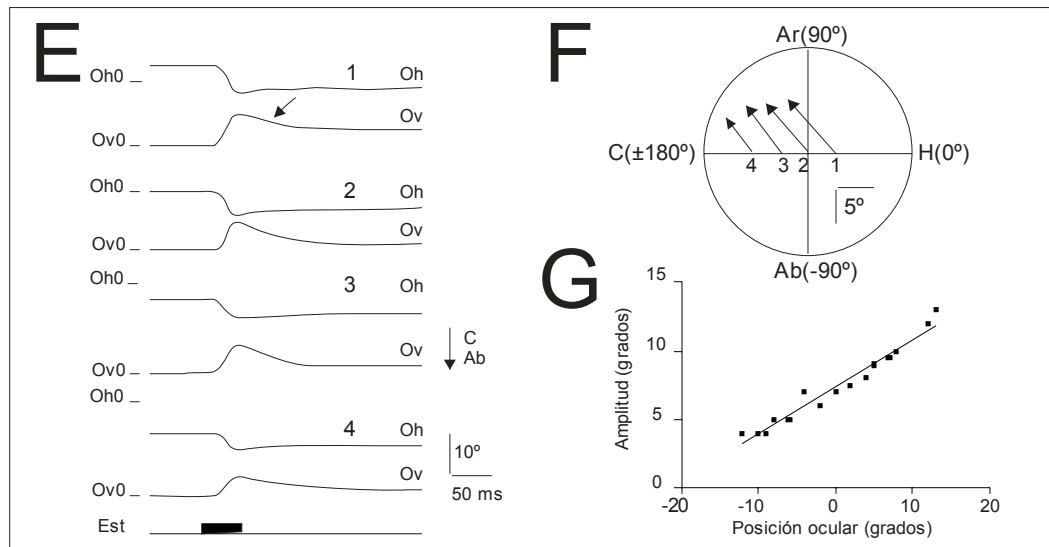
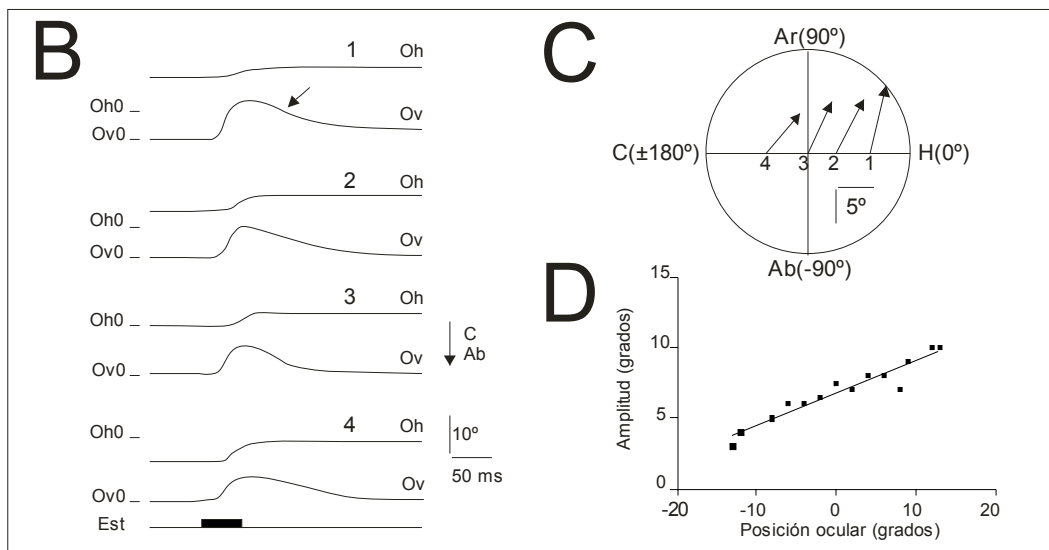
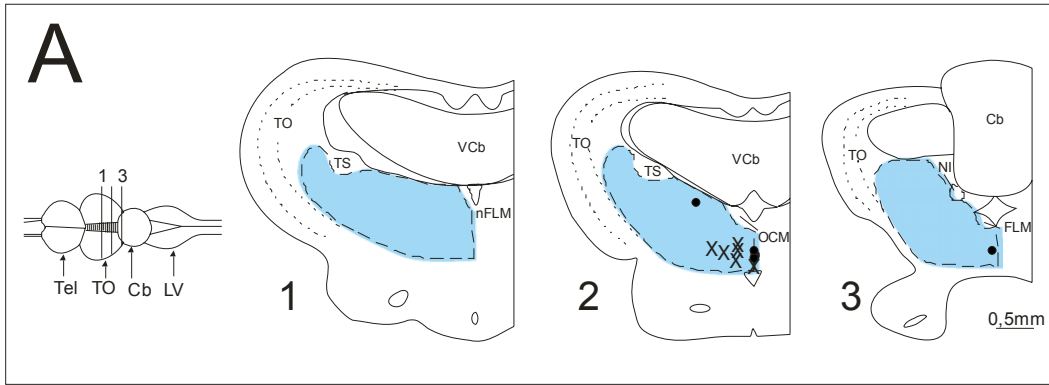


Figura 4.16. Características de los movimientos oculares oblicuos cuya dirección varió entre 45° y 85° . **A.** Esquema de secciones coronales correspondientes a los mismos niveles de los representados en la figura 4.8A. Los puntos señalan los sitios cuya estimulación produjo movimientos oblicuos de $45^\circ - 85^\circ$ contralaterales, y las cruces señalan los sitios cuya estimulación produjo movimientos oblicuos de $45^\circ-85^\circ$ homolaterales. **B.** Representación del curso temporal del componente horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) oculares oblicuos de $45^\circ-85^\circ$ homolaterales representativos, que partieron desde diferentes posiciones iniciales. **C.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4) en la órbita. **D.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud del componente vertical de este grupo de movimientos. **E.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) oculares oblicuos de $45^\circ-85^\circ$ contralaterales representativos que partieron de diferentes posiciones iniciales. **F.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). **G.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el componente vertical de este grupo de movimientos. Las flechas en B y E indican como el componente vertical de estos movimientos oculares retornó al meridiano horizontal del ojo cuando terminó el estímulo. Abreviaturas en A: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Abreviaturas en B-G: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

La latencia del componente horizontal de los movimientos oculares oblicuos contralaterales de $45^\circ - 85^\circ$ fue de $21,2 \pm 6$ ms, la duración fue de $26,5 \pm 7,5$ ms y la amplitud fue de $7,2^\circ \pm 1,3^\circ$. El componente vertical mostró una latencia de $17,6 \pm 1,3$ ms, una duración de $29,8 \pm 6$ ms y una amplitud de $9,5^\circ \pm 0,6^\circ$ (Fig. 4.16E). La dirección de estos movimientos fue de $118,9^\circ \pm 4,2^\circ$ (Fig. 4.16F). En este caso, al igual que en los anteriores, el componente horizontal del movimiento mantuvo la posición final pero el vertical no (Fig. 4.16E). La amplitud de los componentes vertical y horizontal dependió de la posición inicial del ojo en la órbita. Para el ejemplo ilustrado en la figura Fig. 4.16G, amplitud vertical = $8,1^\circ + 0,3$ posición inicial ($r = 0,98$; $p < 0,0001$).

La posición inicial del ojo no influyó sobre la dirección de ningún grupo de movimientos oblicuos. Por otro lado, ni la dirección (Fig. 4.17) ni la amplitud (Fig. 4.18) de ningún grupo de movimientos dependió de la localización del sitio de estimulación.

Movimientos oculares convergentes.

Este tipo de movimientos se caracterizó por desplazar ambos ojos en dirección nasal. Desde la mayoría de los sitios se produjeron movimientos horizontales puros (13/139) y sólo en algunos casos mostraron componente vertical (2/139). Los movimientos oculares convergentes se produjeron principalmente desde sitios localizados en la mitad rostral de la formación reticular del mesencéfalo, cercanos a la línea media y a diferentes profundidades (Fig. 4.19A).

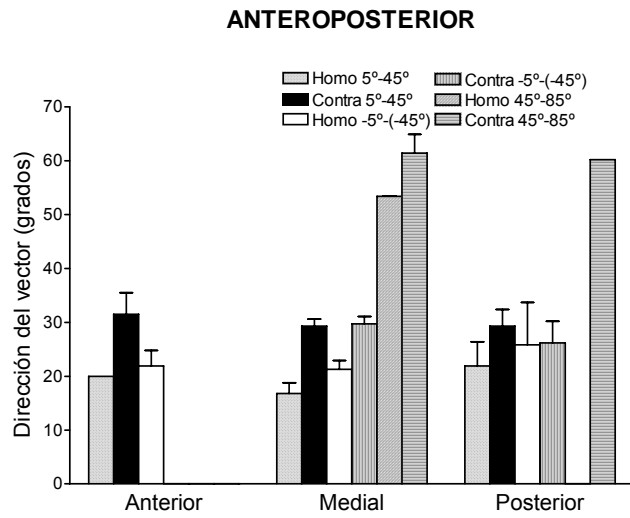
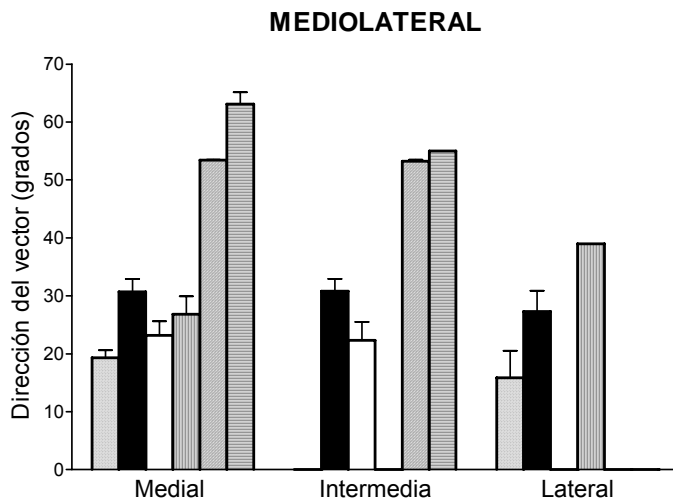
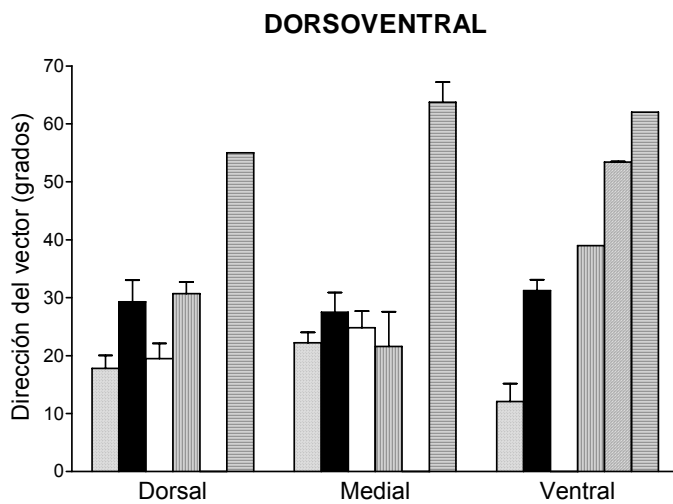
A**B****C**

Figura 4.17. Influencia del sitio de estimulación a lo largo de los ejes de la formación reticular mesencefálica (dividida en tercios) sobre la dirección de los diferentes grupos de movimientos oculares oblicuos considerados en este estudio. Homo y contra indican movimientos de dirección homolateral y contralateral con respecto al sitio estimulado.

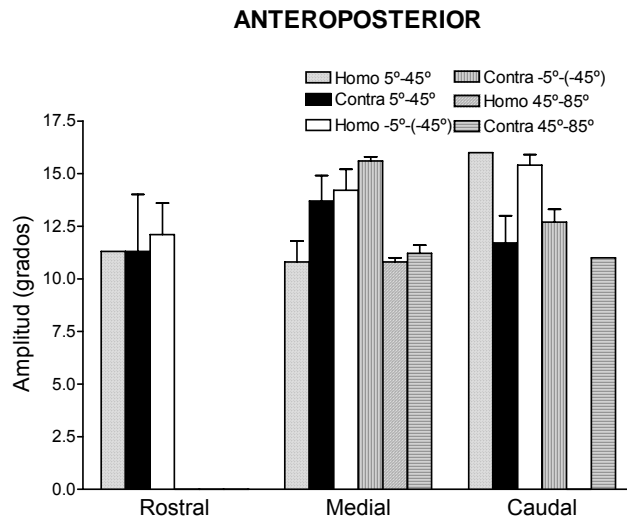
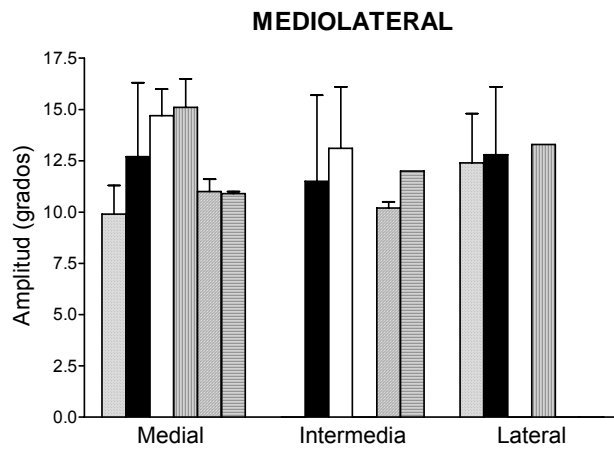
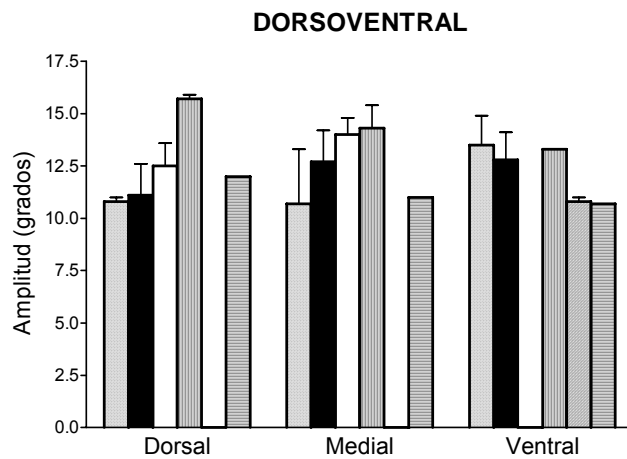
A**B****C**

Figura 4.18. Influencia del sitio de estimulación a lo largo de los ejes de la formación reticular mesencefálica (dividida en tercios) sobre la amplitud de los diferentes grupos de movimientos oculares oblicuos considerados en este estudio. Homo y contra indican movimientos de dirección homolateral y contralateral con respecto al sitio estimulado.

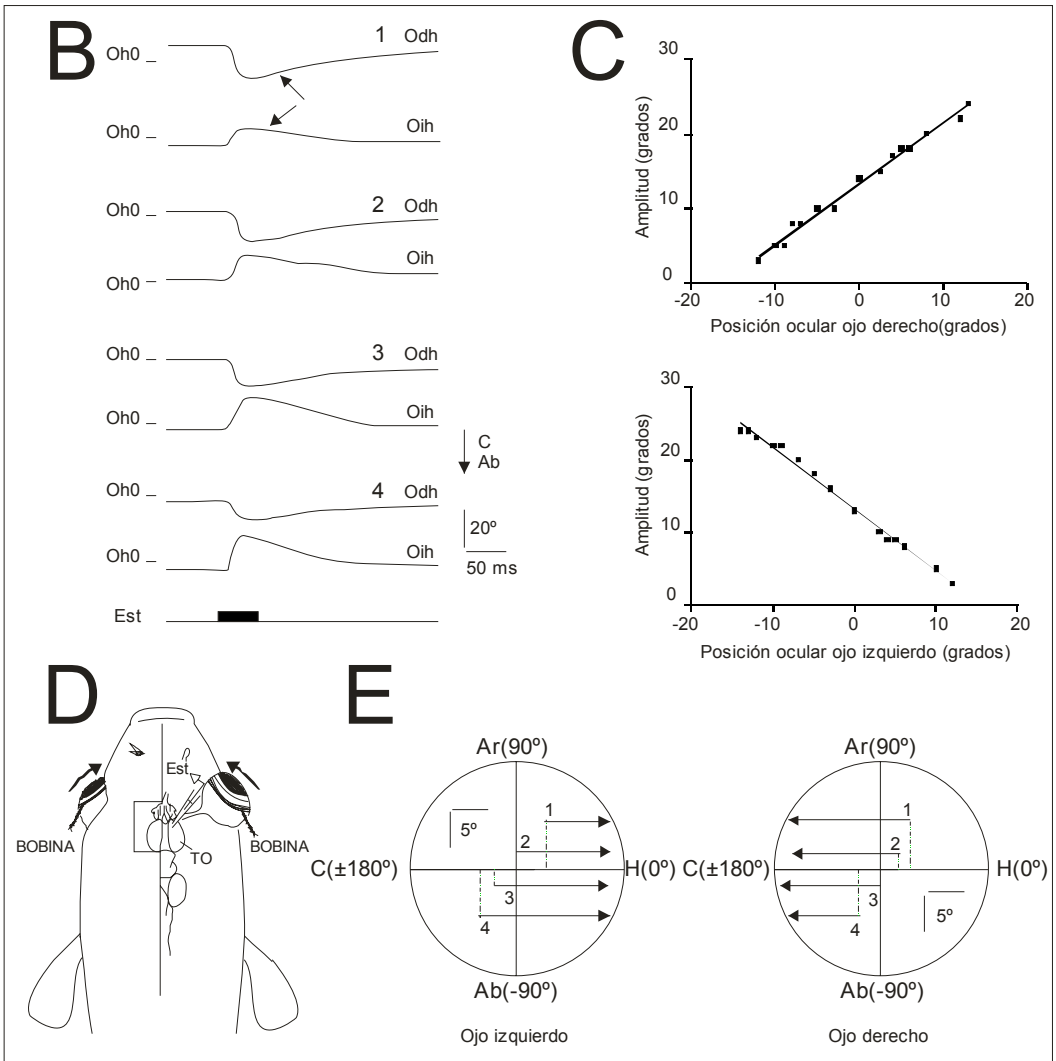
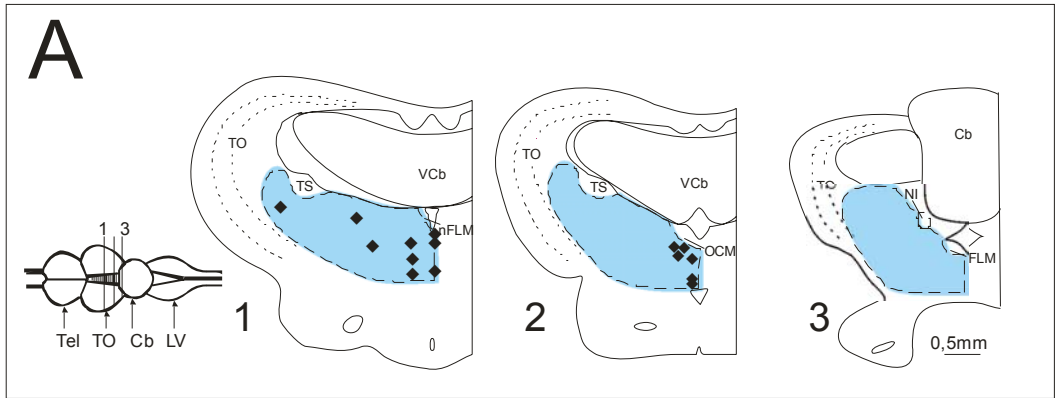


Figura 4.19. Características de los movimientos oculares convergentes. **A.** Esquemas de secciones coronales correspondientes al mismo nivel representado en la figura 4.8A. Los rombos señalan los sitios cuya estimulación produjo este tipo de movimientos oculares. **B.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal del ojo derecho (Odh) y del ojo izquierdo (Oih) de cuatro movimientos oculares (1-4) convergentes representativos que partieron desde diferentes posiciones iniciales. Las flechas en el movimiento 1 indican como el componente horizontal del movimiento ocular no mantuvo su posición final tras el estímulo. **C.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud de los componentes horizontal de este grupo de movimientos. Arriba se representa la gráfica obtenida para el ojo derecho y abajo se representa la gráfica para el ojo izquierdo. **D.** Representación esquemática de los movimientos oculares de convergencia. **E.** Representación vectorial de los cuatro movimientos oculares (1-4) ilustrados en B. A la izquierda, se representan los vectores de movimiento del ojo izquierdo, y a la derecha se representan los vectores de movimiento del ojo derecho. Abreviaturas en A: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Abreviaturas en B-G: Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

Los movimientos convergentes mostraron una latencia para el componente horizontal de $11,4 \pm 1,1$ ms, una amplitud de $14,5^\circ \pm 3,1^\circ$, y una duración de $37,7 \pm 1,9$ ms. Para movimientos oculares convergentes oblicuos, el componente vertical presentó una latencia de $17,5 \pm 1,5$ ms, una amplitud de $5,1^\circ \pm 0,7^\circ$, y una duración de $30,3 \pm 1,1$ ms. En este tipo de movimientos no se mantuvo la posición final del ojo con estímulos de corta duración (Fig. 4.19B, D, E), pero cuando se prolongó la duración el ojo se mantuvo en su posición final mientras duró el estímulo (no ilustrado). La amplitud del movimiento se modificó con la posición inicial del ojo en la órbita (Fig. 4.19C) tanto para el ojo derecho (amplitud horizontal = $13,4^\circ + 0,8$ posición inicial; $r = 0,99$; $p < 0,0001$), como para el izquierdo (amplitud horizontal = $13,8^\circ - 0,8$ posición inicial; $r = 0,99$; $p < 0,0001$).

Movimientos oculares dirigidos a una meta.

Estos movimientos se caracterizaron por mostrar una dirección homolateral o contralateral dependiendo de la posición inicial del ojo en la órbita. Se encontraron dos grupos de movimientos dirigidos a una meta: horizontales puros (4/139) y oblicuos (15/139). Estos movimientos oculares se produjeron principalmente en la mitad caudal de la formación reticular del mesencéfalo, aunque en algunos casos se situaron rostrales (Fig. 4.20A).

Los movimientos oculares horizontales dirigidos a una meta mostraron una latencia de $39,1 \pm 2,8$ ms, una duración de $32,3 \pm 3,8$ ms y una amplitud de $5,4^\circ \pm 1,2^\circ$ (Fig. 4.20B, C). La amplitud del movimiento sacádico varió en función de la posición inicial del ojo en la órbita. En estos movimientos se obtuvieron dos

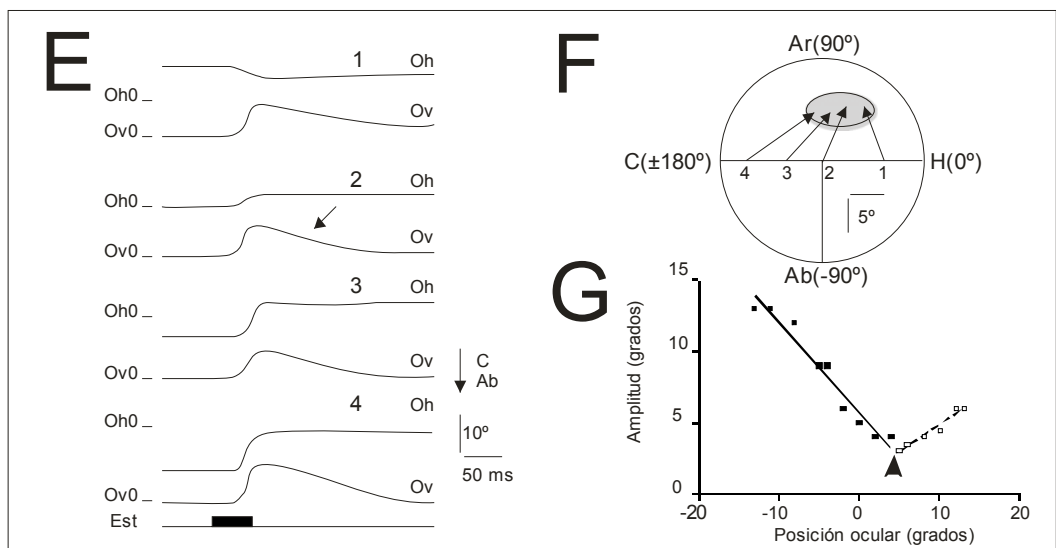
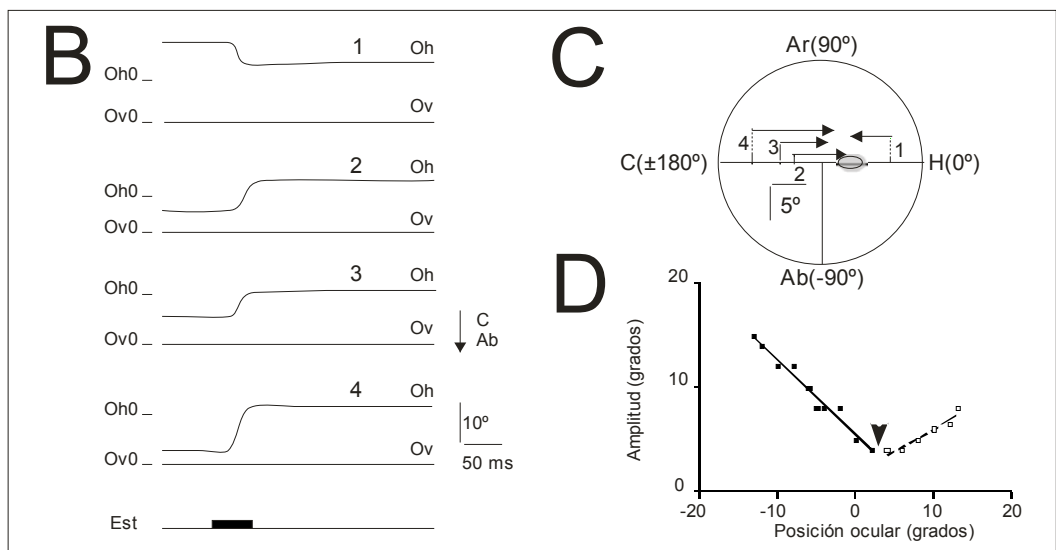
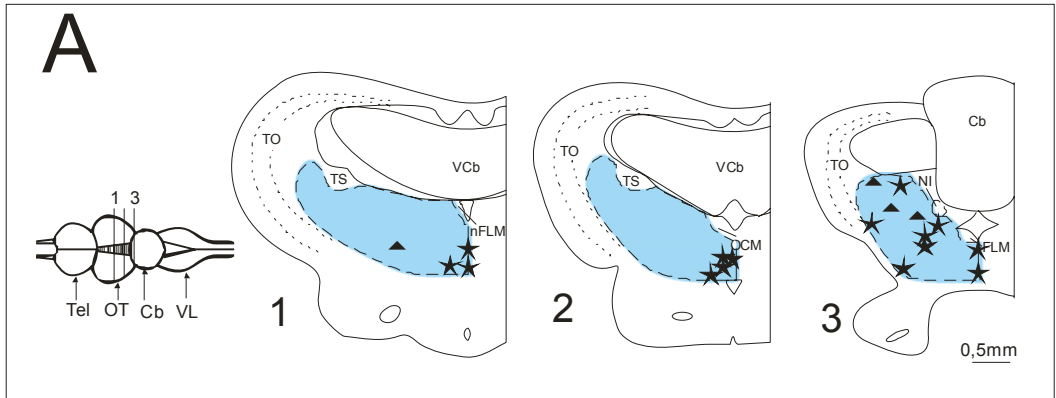


Figura 4.20. Características de los movimientos oculares dirigidos a una meta. **A.** Esquemas de secciones coronales correspondientes a los mismos niveles representados en la figura 4.8A. Los triángulos señalan los sitios cuya estimulación produjo movimientos oculares horizontales dirigidos a una meta, y las estrellas señalan los sitios cuya estimulación produjo movimientos oculares oblicuos dirigidos a una meta. **B.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) horizontales dirigidos a una meta representativos que partieron desde diferentes posiciones iniciales. **C.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). El área gris representa la meta de este grupo de movimientos oculares. **D.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la dirección de este grupo de movimientos. La cabeza de flecha indica la meta de este tipo de movimientos oculares. **E.** Representación del curso temporal de los componentes horizontal (Oh) y vertical (Ov) de cuatro movimientos (1-4) oblicuos dirigidos a una meta representativos que partieron de diferentes posiciones iniciales. La flecha en el movimiento ocular 2 indica como el componente vertical de este movimiento volvió al meridiano horizontal tras el estímulo. **F.** Representación vectorial de estos cuatro movimientos oculares (1-4). La zona gris se corresponde con la meta de este grupo de movimientos sacádicos. **G.** Influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud del componente horizontal de este grupo de movimientos. La cabeza de flecha señala la meta de estos movimientos oculares. Abreviaturas: Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; LV, lóbulos vagales; NI, núcleo del istmo; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo; Ab, abajo; Ar, arriba; C, contralateral; Est, estímulo; H, homolateral; Oh0 y Ov0, posiciones centrales del ojo en la órbita en el plano horizontal y vertical, respectivamente. Calibraciones como se indican.

relaciones lineales (Fig. 4.20D), una para sacádicos homolaterales (amplitud = $5,4^\circ - 0,3$ posición inicial; $r = 0,98$; $p < 0,005$), y otra para sacádicos contralaterales (amplitud = $1,8^\circ + 0,4$ posición inicial; $r = 0,96$; $p < 0,005$). La meta de los movimientos fue el punto de intersección de ambas rectas (Fig. 4.20D).

El componente horizontal de los movimientos oblicuos dirigidos a una meta presentó una latencia de $33,9 \pm 2,3$ ms, una amplitud de $6,1^\circ \pm 1,2$, y una duración de $42,7 \pm 1,3$ ms. El componente vertical de estos movimientos mostró una latencia de $29,9 \pm 2,3$ ms, una amplitud de $7,2^\circ \pm 0,9^\circ$, y una duración de $37,7 \pm 1,8$ ms. En este tipo de movimientos sacádicos, el componente horizontal mantuvo la posición final tras la estimulación de corta duración, mientras que el vertical no (Fig. 4.20E). La dirección (Fig. 4.20F) y amplitud (Fig. 4.20G) de este tipo de movimientos dependió de la posición inicial del ojo en la órbita. Para el ejemplo mostrado en la figura 4.20G se encontró que: amplitud horizontal de sacádicos homolaterales = $5,7^\circ - 0,6$ posición inicial; $r = 0,97$; $p < 0,005$; amplitud horizontal de sacádicos contralaterales = $0,3$ posición inicial + $1,4^\circ$; $r = 0,97$; $p < 0,005$.

4.2.5. Efecto de los parámetros de estimulación sobre las características del movimiento.

Este estudio se realizó en sitios que produjeron los distintos tipos de movimientos descritos. Independientemente del tipo de movimientos, los efectos fueron similares a los que se presentan en las figuras 4.21 y 4.22 para movimientos oculares horizontales puros. Así (Fig. 4.21), el aumento de la intensidad de corriente (0-50 μ A), manteniendo constante la duración (50 ms) y frecuencia del estímulo (500

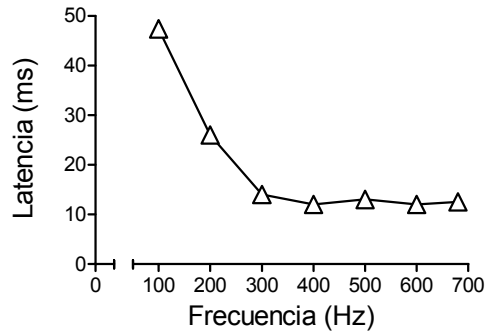
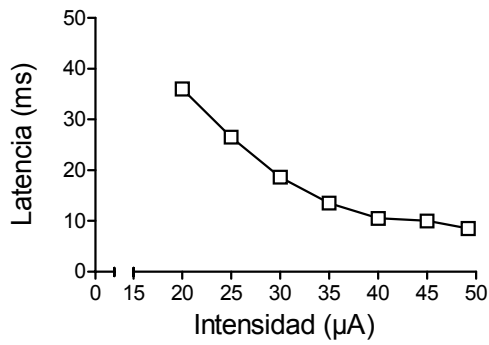
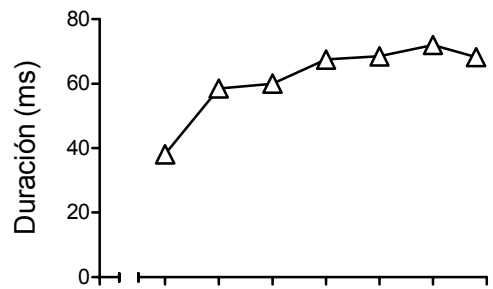
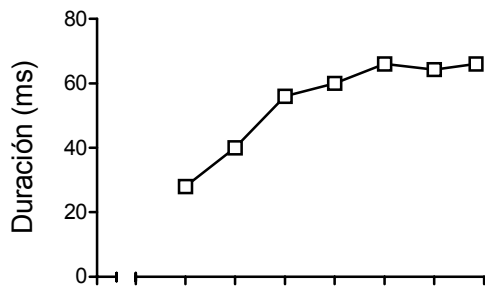
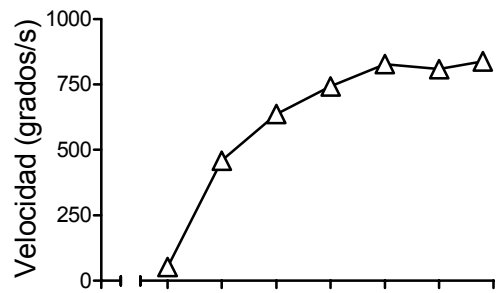
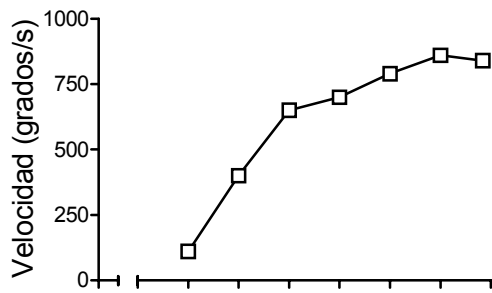
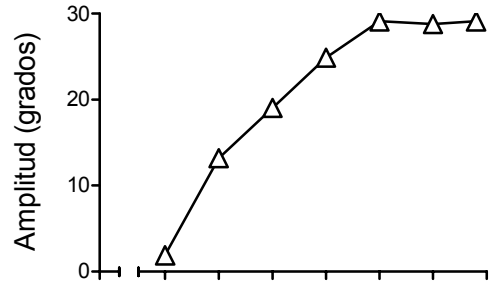
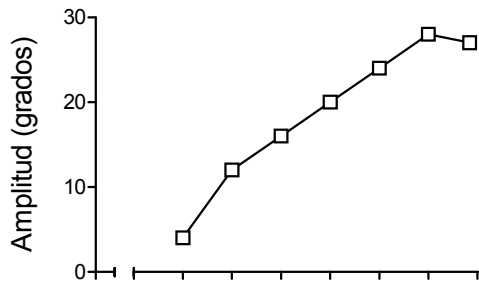


Figura 4.21. Efecto de los parámetros de estimulación sobre las características del movimiento (amplitud, velocidad, duración y latencia del movimiento). A la izquierda se muestra el efecto de la intensidad del estímulo sobre las características del movimiento. A la derecha se muestra el efecto de la frecuencia del estímulo sobre las características del movimiento. Los errores estándar no se muestran porque no excedieron el diámetro de los símbolos.

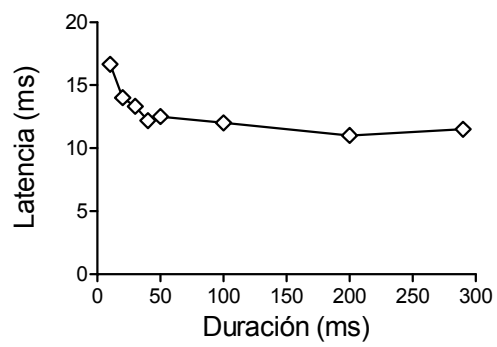
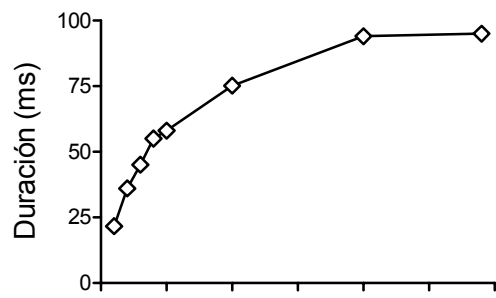
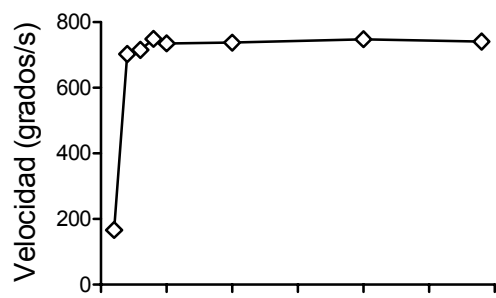
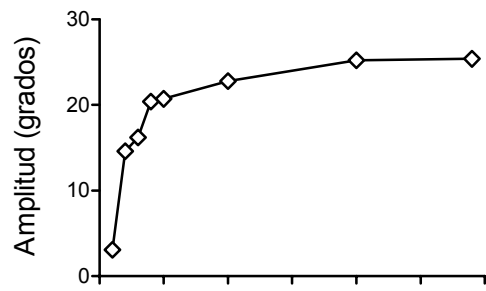


Figura 4.22. Efecto de la duración del estímulo sobre las características del movimiento (amplitud, velocidad, duración y latencia). Los errores estándar no se muestran porque no excedieron el diámetro de los símbolos.

Hz), produjo un aumento progresivo en amplitud, velocidad máxima y duración hasta alcanzar un valor meseta. El valor meseta se alcanzó a una intensidad de aproximadamente 40 μ A, dependiendo del sitio de estimulación. La latencia disminuyó a medida que aumentó la intensidad del estímulo, alcanzando un nivel mínimo para una corriente de aproximadamente 40 μ A. El aumento de la intensidad del estímulo no afectó a la dirección del movimiento.

Con el aumento de la frecuencia del estímulo (0-700 Hz), manteniendo constante la duración (50 ms) y la intensidad del estímulo (40 μ A), se obtuvieron efectos similares sobre la amplitud, la duración y velocidad máxima, a los descritos para el incremento de intensidad de corriente. En este caso el valor meseta en cada uno de los parámetros se produjo para una frecuencia aproximada de 400 Hz. Por otro lado, el aumento de la frecuencia del estímulo causó una disminución de la latencia hasta alcanzar un mínimo a aproximadamente 400 Hz. La dirección tampoco se afectó por el aumento de la frecuencia del estímulo.

El aumento de la duración del estímulo (0-300 ms) manteniendo constante la frecuencia (500 Hz) y la intensidad del estímulo (40 μ A) produjo efectos similares a los descritos anteriormente. Se encontró un incremento en la amplitud y duración hasta alcanzar un valor meseta a una duración aproximada de 200 ms (Fig. 4.22). Sin embargo, la velocidad máxima alcanzó el valor meseta a una duración aproximada de 20 ms. En cuanto a la latencia del movimiento, se observó que al aumentar la duración del estímulo, aquella disminuyó hasta alcanzar un valor

meseta a unos 40 ms. La dirección del movimiento no se afectó por el aumento de la duración del estímulo.

4.2.6. Comparación entre movimientos oculares espontáneos y producidos eléctricamente.

La figura 4.23 muestra la variación de la velocidad máxima y la duración de los movimientos sacádicos con la amplitud de los movimientos oculares espontáneos y producidos eléctricamente para averiguar si las propiedades métricas y cinéticas de ambos tipos de movimientos fueron similares. Como se ha descrito previamente en otros vertebrados (Fuchs, 1967), los movimientos oculares espontáneos en la carpa dorada mostraron un incremento en la velocidad máxima y la duración con la amplitud del movimiento (Fig. 4.23A, B). Estas relaciones mostraron características similares a las obtenidas modificando la intensidad de corriente y la frecuencia de estimulación (Fig. 4.23C, D).

La relación de la amplitud frente a la velocidad máxima obtenida modificando la duración del tren de estímulos fue diferente a la de movimientos espontáneos (Fig. 4.23E). Así, la velocidad máxima de los movimientos producidos eléctricamente no aumentó con la amplitud a lo largo de todo el rango oculomotor, sino que alcanzó un nivel máximo aproximadamente a 15° . Por el contrario, la relación amplitud frente a duración, obtenida modificando la duración del tren de estímulo, fue cualitativamente similar a la de los movimientos espontáneos (Fig. 4.23F).

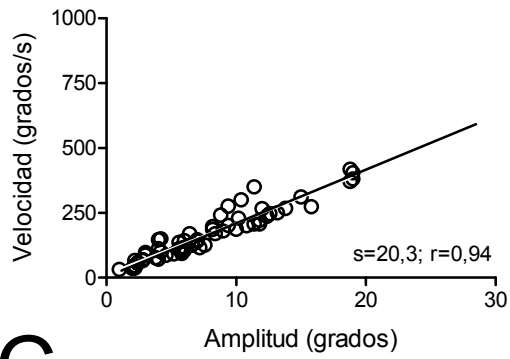
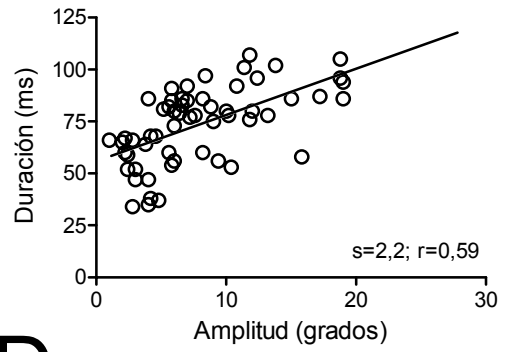
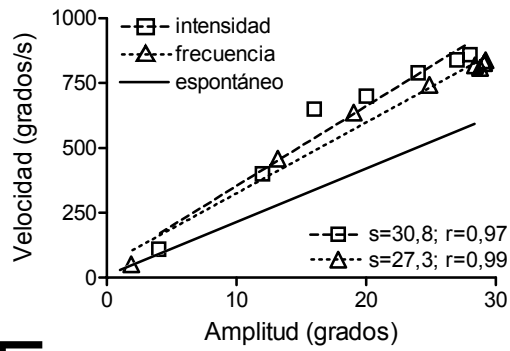
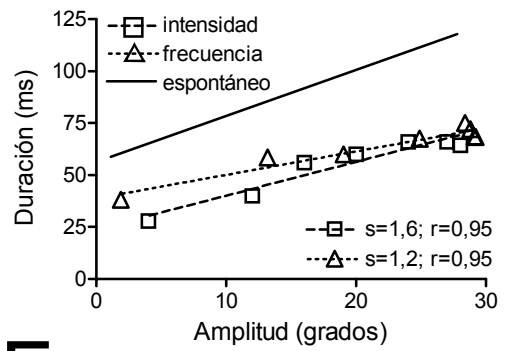
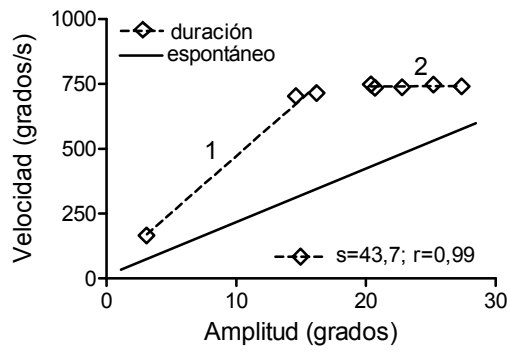
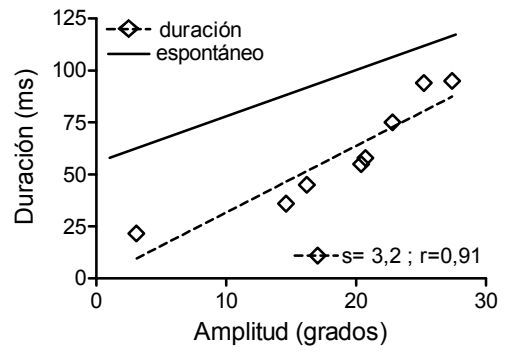
A**B****C****D****E****F**

Figura 4.23. Estudio comparativo de las características de los movimientos oculares espontáneos e inducidos por la microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica. **A, B.** Relación entre la amplitud de los movimientos oculares espontáneos y su velocidad (A) o su duración (B). **C, D.** Relación entre la amplitud y la velocidad (C) o duración (D) en el caso de los movimientos oculares espontáneos y los obtenidos al estudiar el efecto de la intensidad o frecuencia del estímulo. **E, F.** Relación entre la amplitud y la velocidad (E) o duración (F) en el caso de los movimientos oculares espontáneos y los obtenidos al estudiar la influencia de la duración del estímulo. Abreviaturas: r , coeficiente de correlación; s , pendiente de la recta de la regresión lineal.

4.3. Estudio de la conectividad de la formación reticular del mesencéfalo con el techo óptico.

4.3.1. Localización e identificación funcional de los sitios de inyección.

En los doce casos experimentales estudiados, los núcleos de las diferentes inyecciones de BDA se localizaron en sitios de la formación reticular del mesencéfalo identificados fisiológicamente. En atención a las zonas funcionales determinadas en la sección anterior, las inyecciones se agruparon siguiendo criterios anatómicos y fisiológicos. Las inyecciones localizadas en las zonas rostrales se seleccionaron porque produjeron movimientos verticales puros hacia arriba o hacia abajo. Las inyecciones localizadas medial y caudalmente produjeron movimientos oblicuos u horizontales puros. El número de casos estudiados en cada caso fue de tres. Las figuras 4.24 y 4.25 ilustran las localizaciones y propiedades funcionales de cuatro casos representativos desde donde se produjeron estos tipos de movimientos oculares.

El núcleo de las inyecciones que produjeron movimientos puros hacia arriba o hacia abajo se situó en el tercio rostral de la formación reticular del mesencéfalo, y en sus aspectos laterales, bajo el toro semicircular (Figs. 4.24A, B y 4.25A, B). En secciones coronales, las inyecciones ocuparon una porción restringida, menos del 3,5% y 10% para el núcleo y el área de dispersión, de la extensión de la formación reticular mesencefálica (Fig. 4.25C). Los movimientos sacádicos verticales dirigidos hacia arriba (Fig. 4.24A) mostraron un componente vertical que varió entre $5,1^{\circ}$ - $9,5^{\circ}$ ($7,6^{\circ} \pm 0,9^{\circ}$). Los movimientos oculares verticales puros dirigidos hacia abajo (Fig. 4.24B) variaron en un rango de $4,4^{\circ}$ - $7,7^{\circ}$ ($6,2^{\circ} \pm 0,9^{\circ}$).

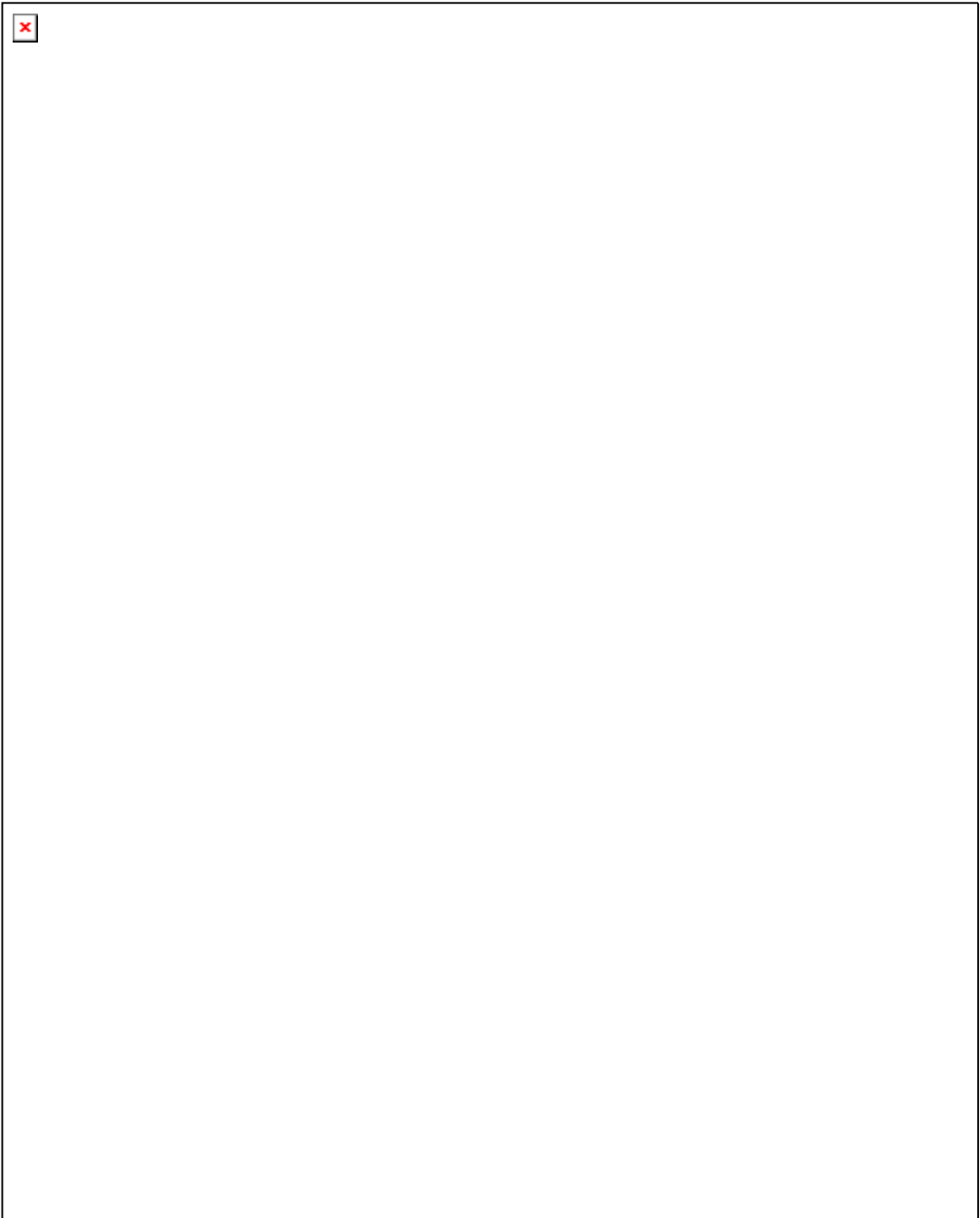


Figura 4.24. Localización e identificación fisiológica de los sitios de inyección en la formación reticular mesencefálica (FRM). **A-D.** En la parte superior, se muestran fotomicrografías de secciones coronales mostrando diferentes sitios de inyección localizados a diferentes niveles de los ejes anteroposterior, dorsoventral y mediolateral. En la parte inferior, se muestran dos ejemplos de movimientos oculares (1, 2) con diferente posición inicial del ojo en la órbita, obtenidos tras la microestimulación eléctrica de cada uno de los sitios inyectados. A la izquierda se representa el curso temporal de los componentes horizontales (Oh) y verticales (Ov) de estos movimientos oculares; a la derecha se muestra la representación vectorial de los movimientos en la órbita. Oh0, Ov0 son las posiciones centrales de los componentes horizontal y vertical de la posición del ojo en la órbita, respectivamente. Abreviaturas: Ab, abajo; C, contralateral; Est, estímulo; Cb, cerebelo; FLM, fascículo longitudinal medial; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; OCM, núcleo oculomotor; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

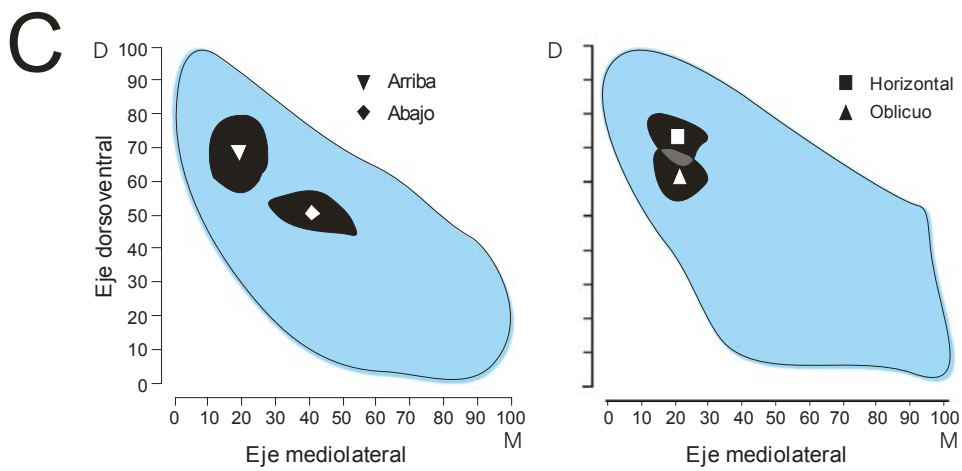
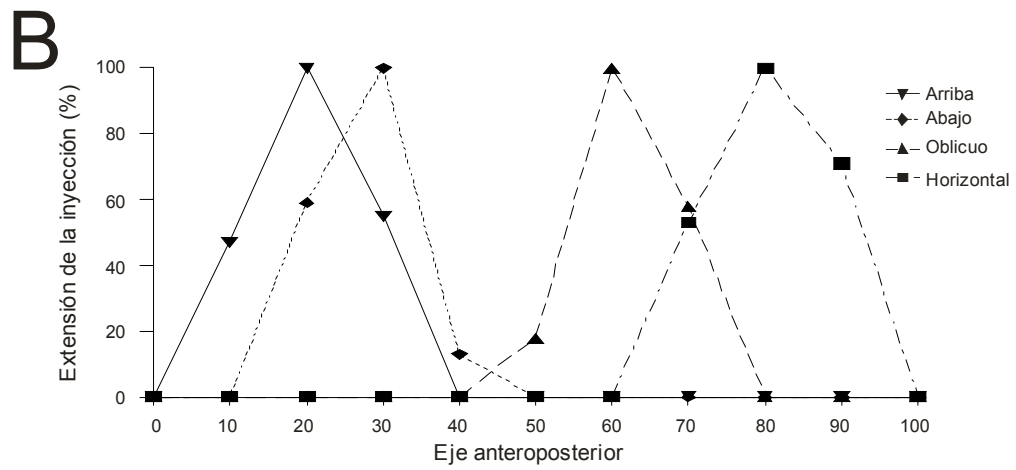
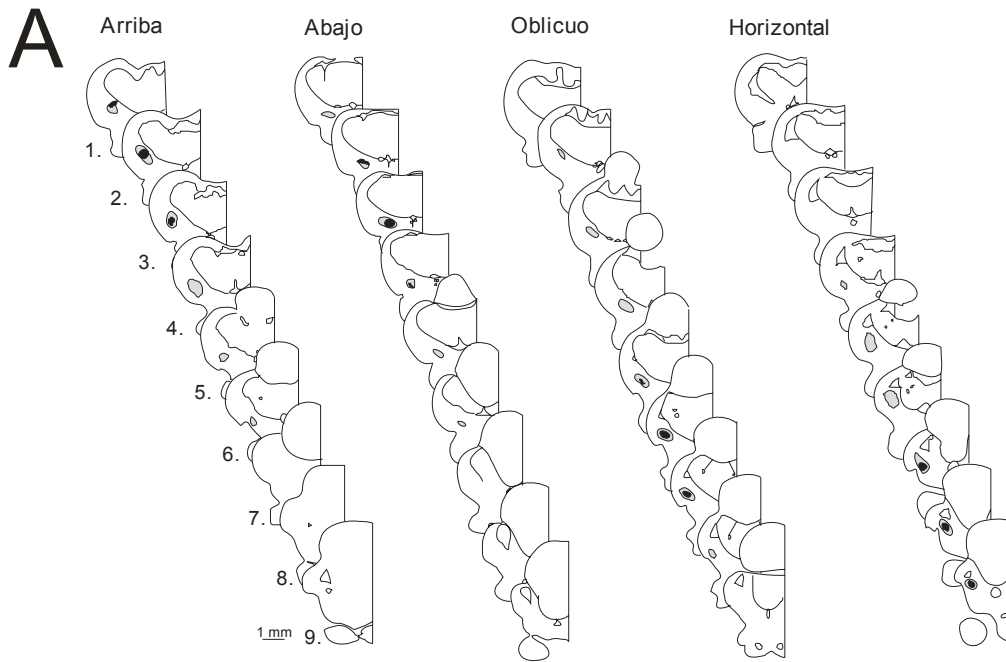


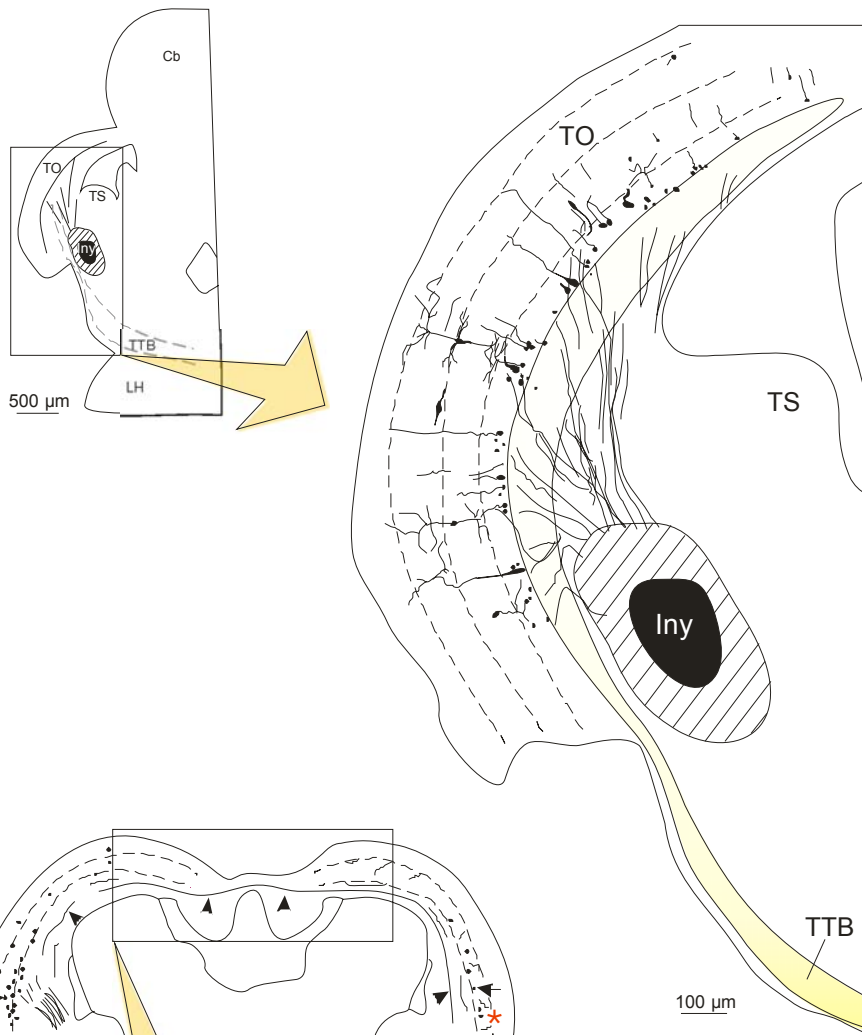
Figura 4.25. Localización y extensión de los sitios de inyección. **A.** Esquemas de secciones coronales mostrando la localización y extensión de los cuatro sitios de inyección. Las inyecciones se correspondieron con los sitios desde los que se produjeron los movimientos oculares ilustrados en la figura 4.24 (vertical dirigido hacia arriba, vertical dirigido hacia abajo, oblicuo y horizontal). **B.** Representación gráfica de la extensión de cada uno de los sitios de inyección a lo largo del eje anteroposterior. **C.** Representación gráfica de la extensión del núcleo central de la inyección a lo largo de los ejes dorsoventral y mediolateral de la formación reticular mesencefálica (región coloreada). Debido a su diferente localización en el eje anteroposterior se comparan las inyecciones rostrales (arriba y abajo) independientemente de las caudales (horizontal y oblicuo). Abreviaturas: D, dorsal; M, medial.

El núcleo de las inyecciones que produjeron movimientos puros oblicuos u horizontales puros se situó en los tercios medial y caudal de la formación reticular del mesencéfalo (Fig. 4.24C, D y 4.25A, B). En todos los casos las inyecciones se localizaron laterales, bajo el toro semicircular. En secciones coronales, las inyecciones ocuparon una porción restringida, menos del 2,3% y 7,7% para el núcleo y el área de dispersión, de la extensión de la formación reticular mesencefálica (Fig. 4.25C). Los movimientos sacádicos oblicuos mostraron un componente horizontal que varió entre $7,1^\circ$ y $12,5^\circ$ ($10,5^\circ \pm 1,3^\circ$), mientras que el componente vertical varió entre $1,2^\circ$ y $6,6^\circ$ ($5,4^\circ \pm 1,1^\circ$). El vector de dirección de estos movimientos fue de $27,9^\circ \pm 7,7^\circ$. Los movimientos sacádicos horizontales puros mostraron una amplitud que varió en un rango de $6,5^\circ - 14,4^\circ$ ($11,5^\circ \pm 1,8^\circ$).

4.3.2. Trayectoria axonal.

Los axones marcados se observaron conectando la zona inyectada de la formación reticular mesencefálica con el techo óptico, rodeando al toro semicircular. Los axones se distribuyeron radialmente cuando alcanzaron los aspectos mediales y ventrales del techo óptico (Figs. 4.26A y 4.30A, B), mientras que cuando conectaron con los aspectos dorsales cursaron en paralelo al estrato periventricular (Fig. 4.26B). La trayectoria de estos axones fue diferente de la del tracto tectobulbar (ver Fig. 5A, B en Herrero y col., 1998a; y Fig. 2A en Pérez-Pérez y col., 2000). De hecho, un criterio para seleccionar los doce casos estudiados fue que no hubiese axones marcados en el tracto tectobulbar o que fuesen pocos (menos del 10% comparados con aquellos que conectaron la formación reticular mesencefálica con el techo

A



B

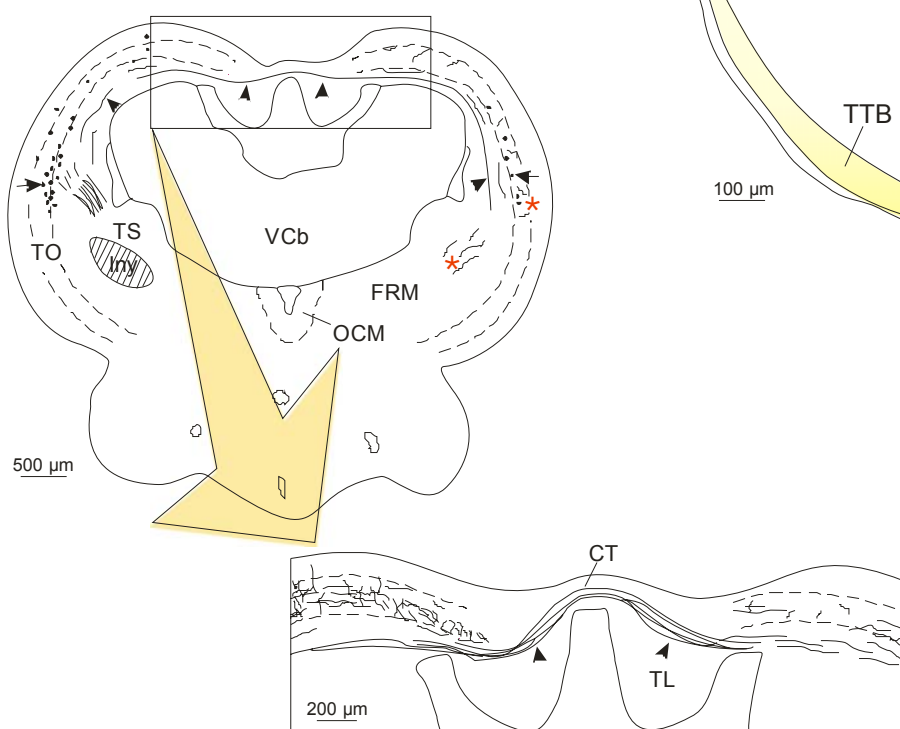


Figura 4.26. Trayectoria de los axones marcados tras inyectar BDA en la formación reticular mesencefálica (FRM). **A.** A la izquierda se muestra el dibujo de una sección coronal, a nivel del sitio de inyección, donde se muestra la trayectoria de los axones marcados que conectan recíprocamente la formación reticular del mesencefalo y el techo óptico. A la derecha, se muestra un detalle ampliado del mismo dibujo. Obsérvese que el tracto tectobulbar (amarillo) cursa diferente a los axones marcados. **B.** A la izquierda se muestra el dibujo de una sección transversal en la que se observa como algunos axones conectan con el techo óptico contralateral (cabezas de flecha). También se muestran colaterales axonales (asteriscos) y neuronas marcadas (flechas). A la derecha se muestra un detalle ampliado del mismo dibujo mostrando como los axones que conectan con el lado contralateral, cursan por la comisura tectal. Abreviaturas: Cb, cerebelo; CT, comisura tectal; Iny, sitio de inyección; LH, lóbulo hipotalámico; OCM, núcleo oculomotor; TL, toro longitudinal; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; TTB, tracto tectobulbar; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

óptico). El diámetro de los axones que conectaron la formación reticular del mesencéfalo y el techo fue de $1,69 \pm 0,3 \mu\text{m}$.

Independientemente del sitio de inyección, los axones se observaron conectando la formación reticular mesencefálica y el lóbulo homolateral del techo óptico. En algunos casos (5/12) se observaron axones marcados cruzando la comisura tectal (Fig. 4.26B) y alcanzando el techo óptico contralateral. Los axones reticulotectales se ramificaron dejando colaterales y botones en las capas intermedias y profundas de los techos homolateral y contralateral; por su parte, los axones tectoreticulares se originaron en células cuyos somas se situaron en estas mismas capas tectales.

4.3.3. Distribución de las neuronas y botones marcados en las capas tectales.

Las neuronas tectoreticulares se situaron principalmente en los estrato gris central y periventricular (Fig. 4.27A). Ocasionalmente se observaron neuronas en los estratos fibroso y gris superficial y blanco central. Aproximadamente el 95% de las neuronas que se encontraron en el estrato gris central tuvieron somas fusiformes ($20,5 \pm 3,1 \mu\text{m}$, diámetro medio \pm error estándar) con cuatro dendritas principales (Figs. 4.27A, B y 4.28A): una dendrita apical cursó dorsalmente hacia el estrato óptico, una segunda dendrita se dirigió centralmente hacia el estrato blanco central, y las otras dos se originaron en la dendrita apical y alcanzaron los aspectos ventrales del estrato fibroso y gris superficial. Estas cuatro dendritas se ramificaron profusamente en sus estratos diana. Otras neuronas del estrato gris central tuvieron soma esférico con un tamaño de $14,4 \pm 1,9 \mu\text{m}$ (Figs. 4.27B y 4.28B-D), pero

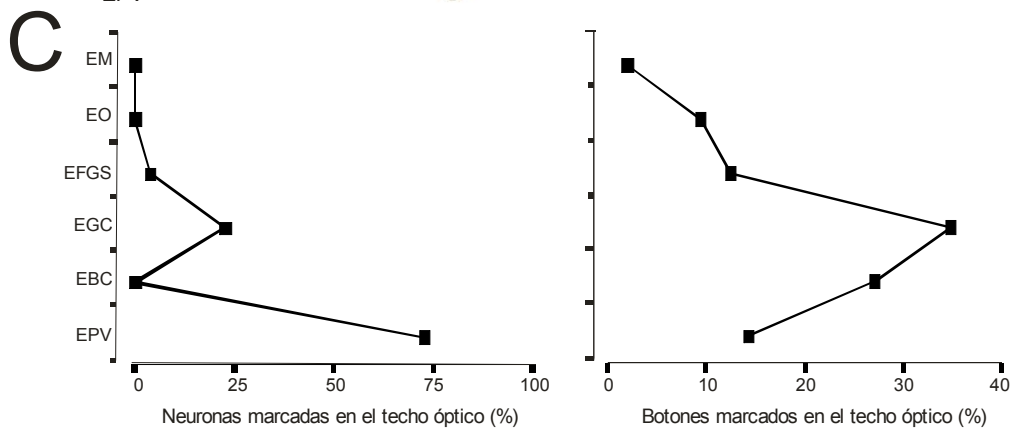
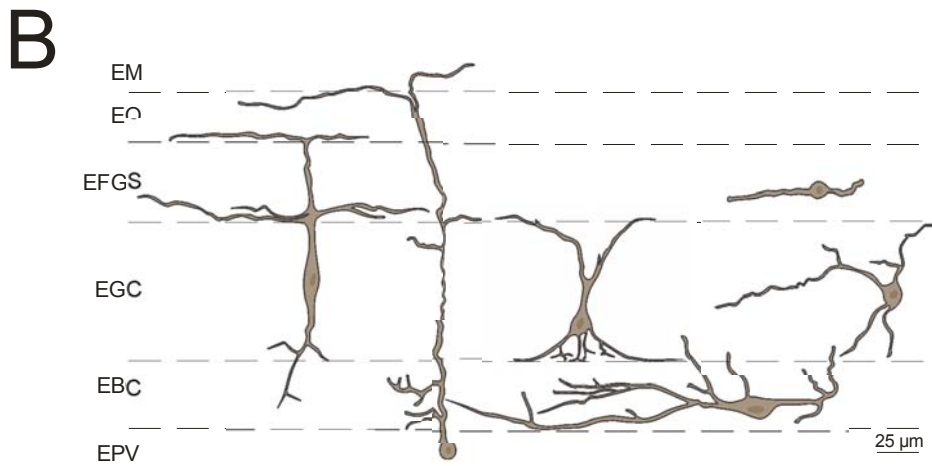
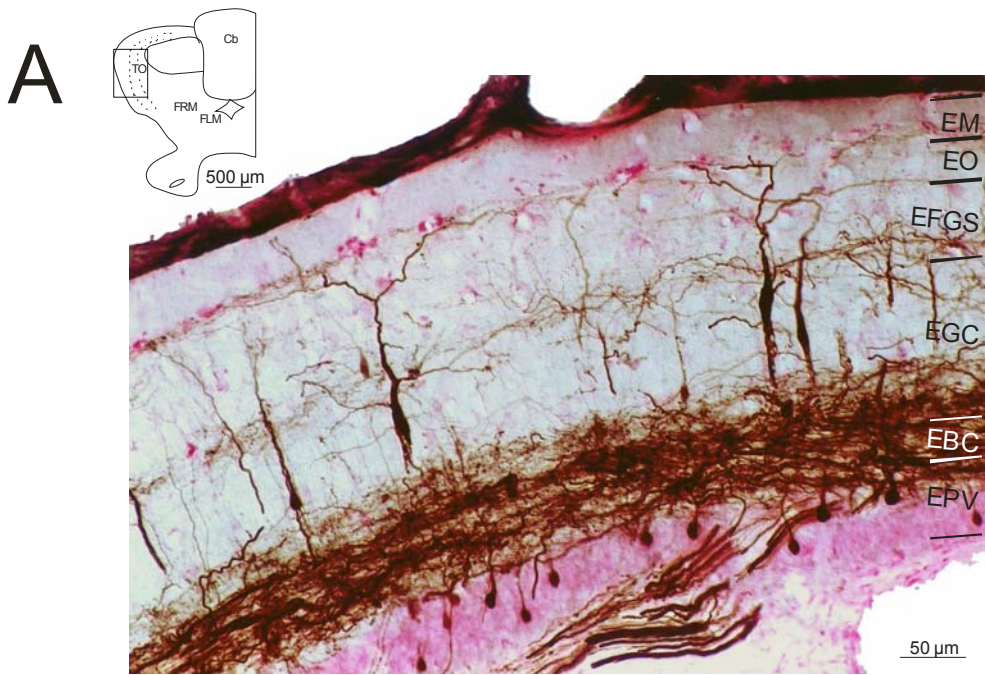


Figura 4.27. Distribución de neuronas y botones en el techo óptico tras la inyección en la formación reticular mesencefálica (FRM). **A.** En la esquina superior izquierda se muestra el dibujo de una sección coronal donde se señala la región de la fotomicrografía. La fotomicrografía muestra la distribución y morfología de las neuronas tectales por capas, obtenidas tras la inyección de BDA en la formación reticular mesencefálica. **B.** Esquema mostrando la diferente morfología de las neuronas tectales por capas. **C.** Representación gráfica mostrando la distribución de neuronas y botones marcados en las distintas capas del techo óptico tras la inyección en la formación reticular mesencefálica. Abreviaturas: Cb, cerebelo; EBC, estrato blanco central; EFGS, estrato fibroso y gris superficial; EGC, estrato gris central; EM, estrato marginal; EO, estrato óptico; EPV, estrato periventricular; FLM, fascículo longitudinal medial; TO, techo óptico. Calibraciones como se indican.

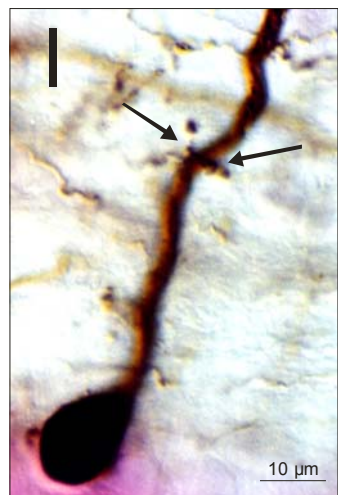
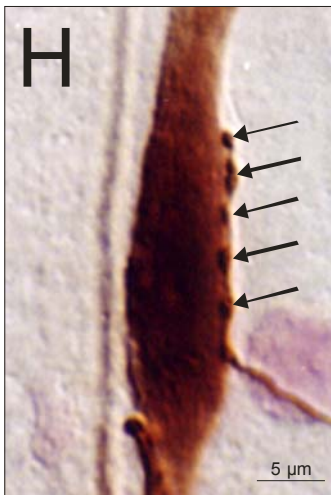
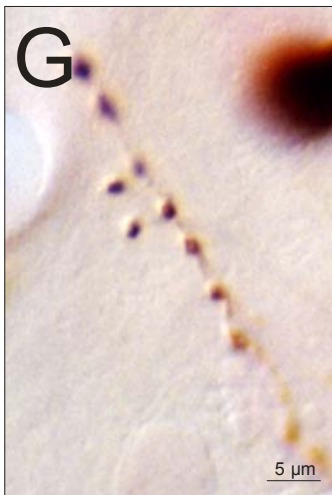
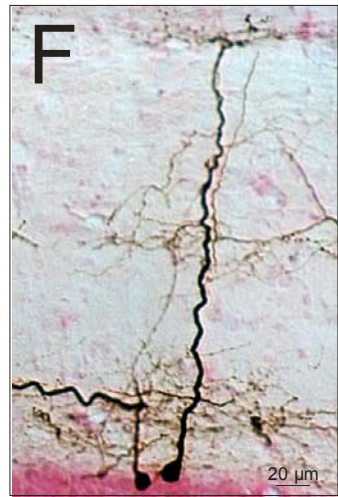
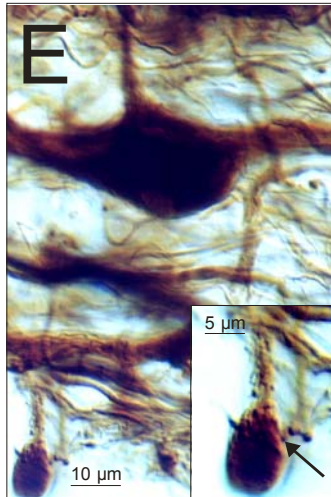
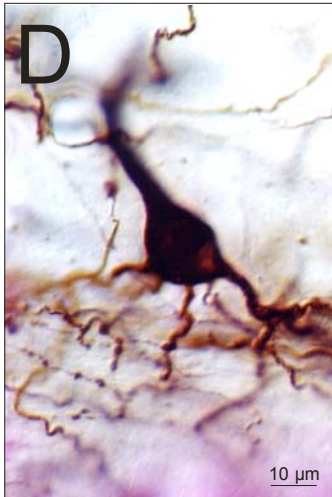
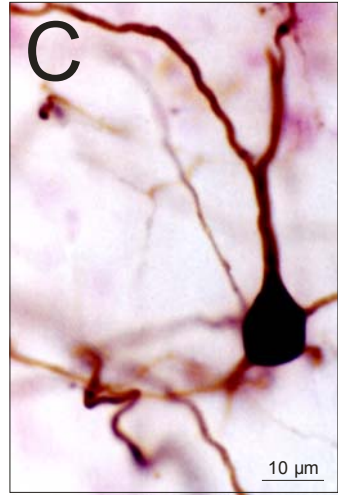
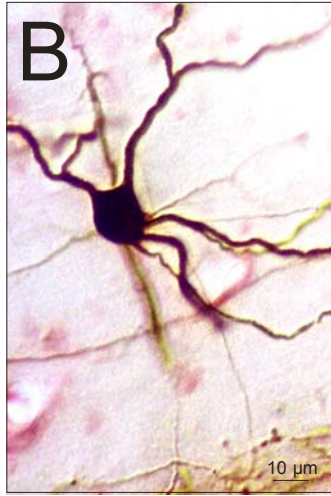


Figura 4.28. Fotomicrografías ilustrando varios tipos de neuronas marcadas retrógradamente y botones en el techo óptico. **A-F.** Diferentes morfologías de neuronas marcadas retrógradamente en el techo óptico. En E también se observan botones cercanos a la dendrita apical de una célula marcada del estrato periventricular (flecha). **G.** Fotomicrografía mostrando botones con morfología “en passant”. **H, I.** Botones cercanos a una neurona bipolar marcada retrógradamente del estrato gris central (flechas) y a la dendrita apical de una neurona del estrato periventricular. Calibraciones como se indican.

mostraron diferencias en sus dendritas. Un tipo (Figs. 4.27B y 4.28B) fue multipolar con un número variable de dendritas (4-6) que se extendieron en el estrato gris central. Otro tipo (Figs. 4.27B y 4.28C) mostró una dendrita apical que cursó hacia los aspectos ventrales del estrato fibroso y gris superficial, donde se ramificó. Además, este último tipo celular presentó numerosas dendritas basales que se ramificaron en el estrato blanco central (Fig. 4.28D). En el estrato blanco central sólo se observó un tipo de neuronas que tuvieron un soma de forma redondeado ($25,3 \pm 1,2 \mu\text{m}$) y dos dendritas principales que cursaron a lo largo del estrato, dejando ramificaciones dorsalmente (Figs. 4.27B y 4.28E). La mayoría de las células se localizaron en la capa periventricular y sus somas fueron piriformes mostrando un tamaño de $10,6 \pm 1,9 \mu\text{m}$ (Figs. 4.27B y 4.28F). La dendrita apical de estas células ascendió hacia el estrato marginal, dejando ramificaciones en el estrato blanco central, y los aspectos ventrales del estrato fibroso y gris superficial, y marginal. Se observaron también células marcadas en el estrato fibroso y gris superficial cuyo soma fue de forma esférica ($11,3 \pm 0,9 \mu\text{m}$) y sus dendritas (1-3) se extendieron en las mismas capas tectales (Fig. 4.27B). La distribución por capas de neuronas tectoreticulares (Fig. 4.27C) mostró que la principal fuente de eferencias procedió del estrato periventricular (74%), decreciendo en los estratos gris central (25%), fibroso y gris superficial (0,7%) y blanco central (0,3%).

Tras las inyecciones en la formación reticular mesencefálica, los axones terminaron en delgadas ramas en diferentes capas tectales. Estas ramificaciones mostraron en su mayoría botones “en passant”, aunque también se observaron algunos botones con morfología terminal (Fig. 4.28G). Algunos de estos botones se

observaron cerca de neuronas marcadas retrógradamente en el estrato gris central (Fig. 4.28H) y de neuronas periventriculares (Fig. 4.28E, I) o adyacentes a las dendritas de este último tipo de células (Fig. 4.28E). Independientemente del sitio inyectado, los botones fueron más abundantes en las capas tectales intermedias (Fig. 4.27C), siendo el estrato gris central (35%) la capa reticulorecpiente principal, descendiendo la abundancia de botones en los estratos blanco central (27%), periventricular (14%), fibroso y gris superficial (12%), óptico (10%) y marginal (2%).

4.3.4. Análisis cuantitativo de los botones y neuronas tectales relativo al sitio de inyección.

Las figuras 4.29, 4.30, 4.31 y la tabla 4.2A, B resumen la distribución de botones y neuronas marcadas a través del techo óptico homolateral en relación a los sitios de inyección, definidos según sus propiedades funcionales. En todos los casos, la distribución de botones y somas dependió del sitio de inyección. Así, las inyecciones en sitios que produjeron movimientos oculares verticales dirigidos hacia arriba proyectaron principalmente a las áreas anterior y medial del techo óptico (Figs. 4.29A, B y 4.31A, E; Tabla 4.2A). La densidad de botones disminuyó con la distancia a estas regiones tectales, aunque los botones se observaron por toda la extensión del techo. Las neuronas marcadas siguieron una distribución similar, aunque se localizaron de forma más restringida en el techo (Figs. 4.29A, B y 4.31A; Tabla 4.2B).

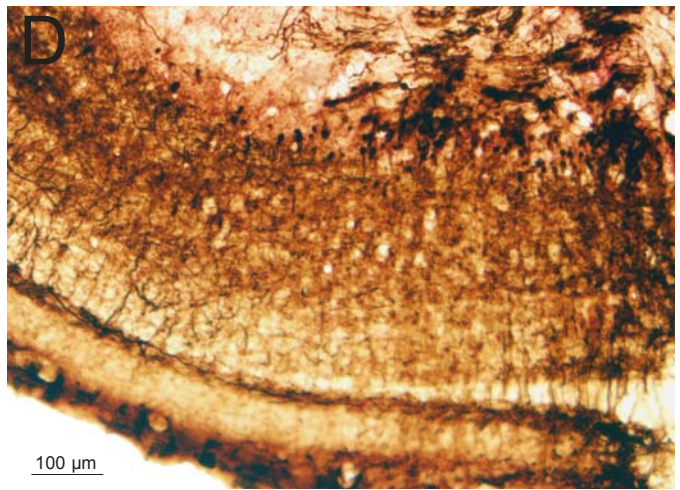
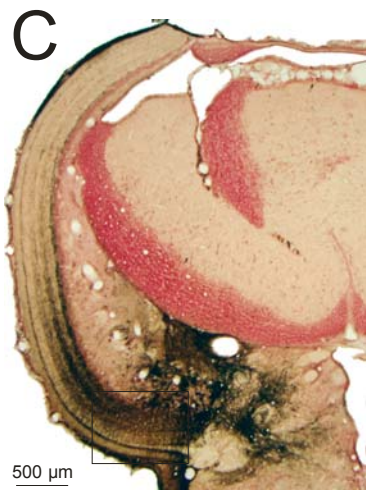
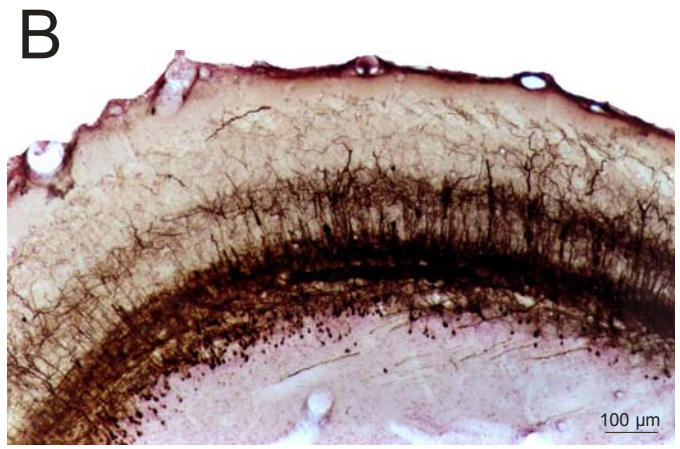


Figura 4.29. Fotomicrografías mostrando la conectividad reticulotectal tras las diferentes inyecciones mostradas en la figura 4.24 y 4.25 que produjeron movimientos verticales puros hacia arriba o abajo. **A, B.** Fotomicrografías mostrando el marcaje obtenido en la región anteromedial del techo óptico tras la inyección desde la que se produjeron movimientos oculares dirigidos hacia arriba. B es un detalle de A. **C, D.** Fotomicrografías mostrando el marcaje obtenido en la región anterior y lateral del techo óptico después de la inyección desde la que se produjeron movimientos dirigidos hacia abajo. D es un detalle de C. Calibraciones como se indican.

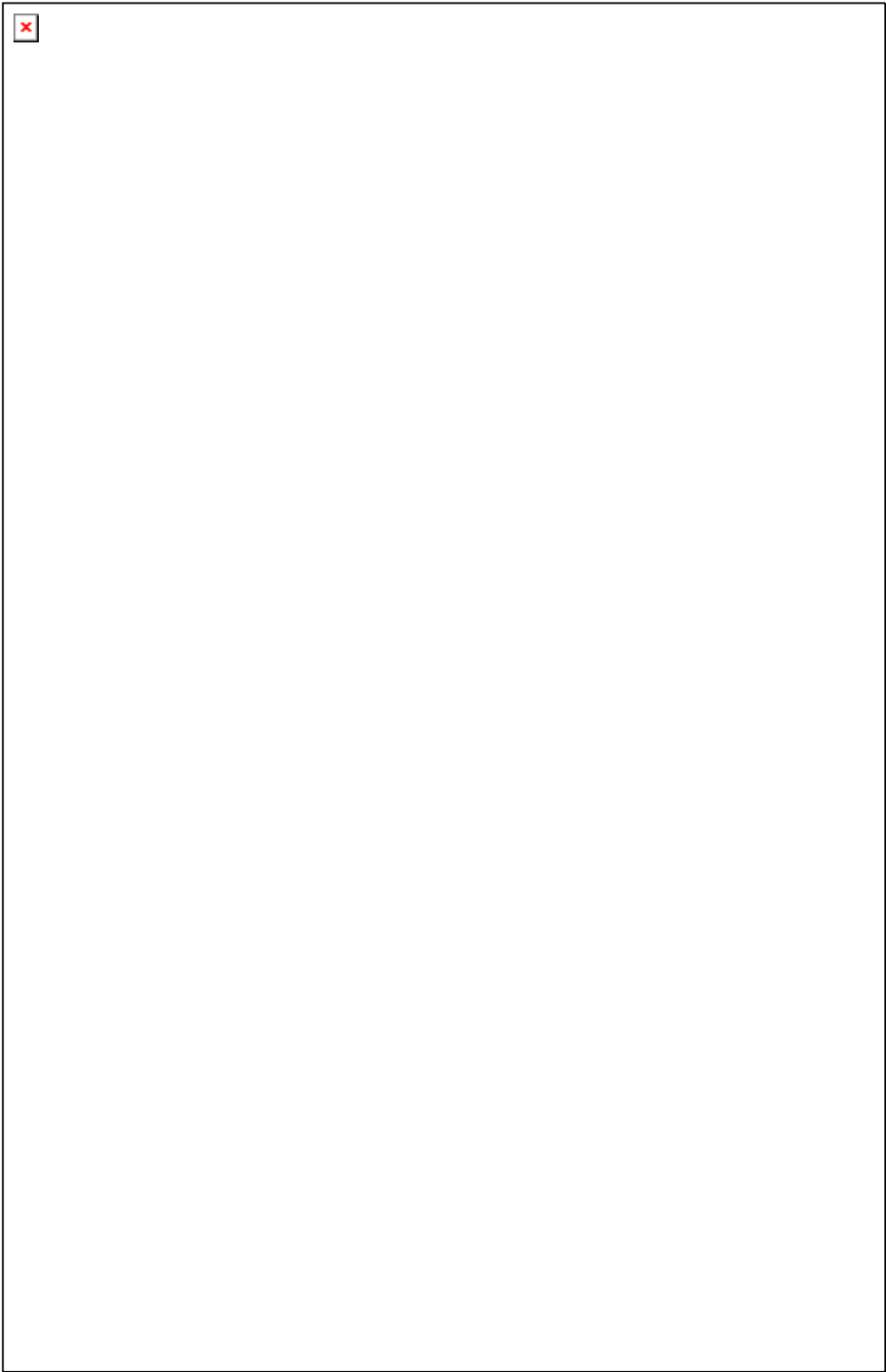


Figura 4.30. Fotomicrografías mostrando la conectividad reticulotectal tras las diferentes inyecciones mostradas en la figura 4.24 y 4.25 que produjeron movimientos oblicuos u horizontales. **A-D.** Fotomicrografías mostrando el marcaje obtenido en la región posterior y medial del techo óptico tras la inyección desde la que se produjeron movimientos oblicuos. B, D son detalles de A y C. **E, F.** Fotomicrografías mostrando el marcaje obtenido en la región posterior del techo óptico después de la inyección desde la que se produjeron movimientos horizontales. F es un detalle de E. Calibraciones como se indican.

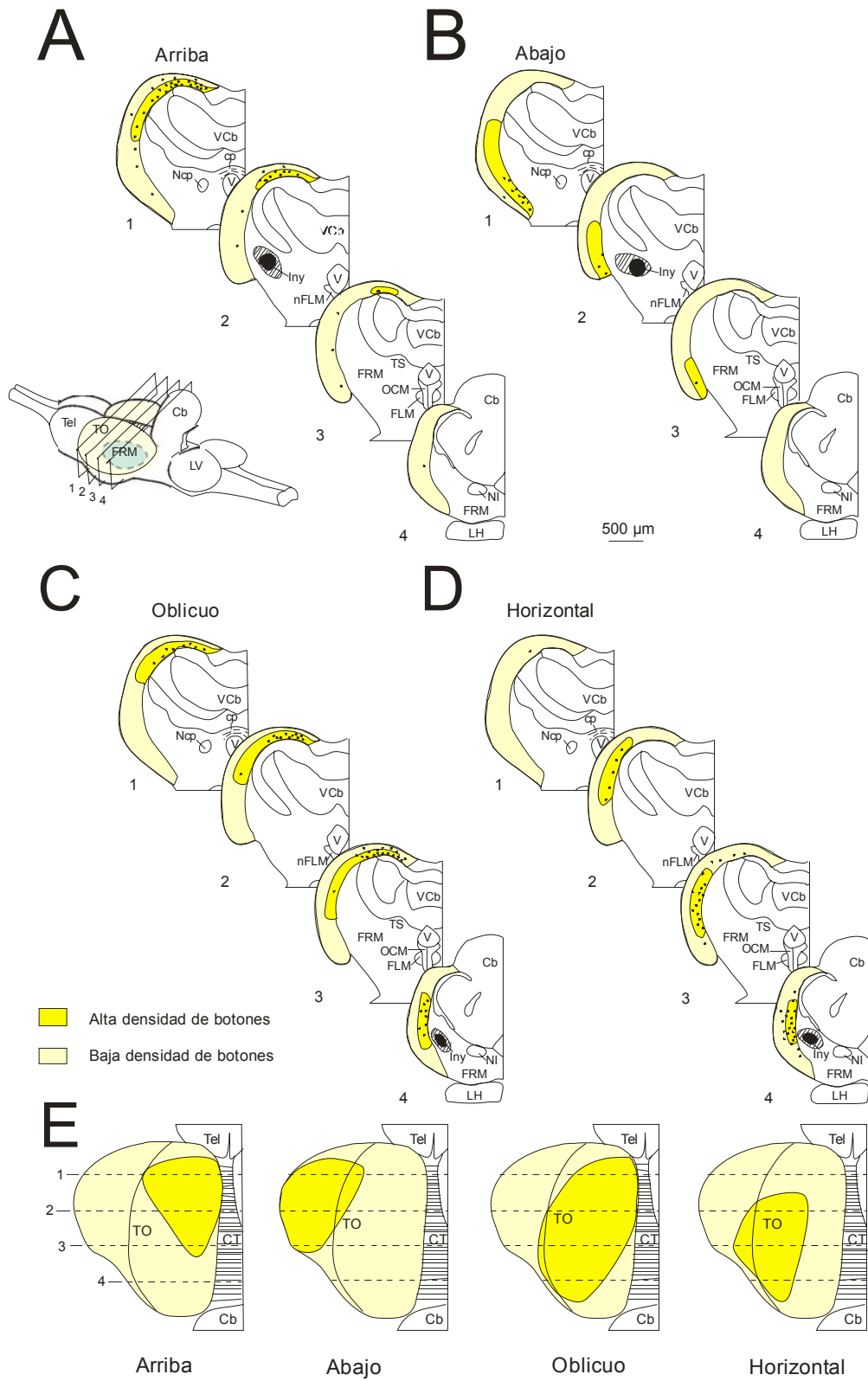


Figura 4.31. Distribución de botones a lo largo de los ejes anteroposterior, mediolateral y dorsoventral del techo óptico tras las inyecciones mostradas en la figura 4.24 y 4.25. **A-D.** Esquemas de secciones coronales mostrando la distribución de botones a lo largo del techo óptico tras la inyección en sitios desde donde se produjeron movimientos oculares verticales dirigidos hacia arriba (A), verticales dirigidos hacia abajo (B), oblicuos (C) y horizontales (D). En la parte superior izquierda se muestra un dibujo del cerebro de la carpa dorada donde se indican los niveles correspondientes a cada uno de las secciones coronales (1-4). **E.** Visión dorsal del techo óptico derecho donde se representa la distribución de botones tras las diferentes inyecciones en la formación reticular mesencefálica. Las líneas discontinuas se corresponden con los niveles de las secciones coronales (1-4) representadas en A-D. Abreviaturas: Cb, cerebelo; cp, comisura posterior; CT, comisura tectal; FLM, fascículo longitudinal medial; FRM, formación reticular mesencefálica; Iny, sitio de inyección; LH, lóbulo hipotalámico; LV, lóbulos vagales; Ncp, núcleo de la comisura posterior; nFLM, núcleo del fascículo longitudinal medial; NI, núcleo del istmo; OCM, núcleo oculomotor; Tel, telencéfalo; TO, techo óptico; TS, toro semicircular; V, ventrículo; VCb, válvula del cerebelo. Calibraciones como se indican.

		ANTERIOR	MEDIAL	POSTERIOR	TO
		Neuronas / Botones	Neuronas / Botones	Neuronas / Botones	
Sitios inyectados en FRM	Arriba	148 / 3302	9 / 1136	0 / 575	MEDIAL
	Abajo	0 / 880	0 / 1131	0 / 850	
	Oblicuo	75 / 1570	98 / 1731	12 / 992	
	Horizontal	15 / 900	15 / 1124	7 / 2250	
	Arriba	53 / 2348	6 / 761	1 / 375	INTERMEDIO
	Abajo	0 / 4244	0 / 3637	0 / 2326	
	Oblicuo	0 / 1251	18 / 1435	30 / 1295	
	Horizontal	0 / 1103	83 / 3254	93 / 3695	
	Arriba	9 / 437	3 / 619	0 / 261	LATERAL
	Abajo	41 / 6031	12 / 4650	0 / 1651	
	Oblicuo	0 / 843	0 / 1055	1 / 1127	
	Horizontal	0 / 296	5 / 660	26 / 1050	

Tabla 4.2. A, B. Distribución de botones (A) y neuronas (B) a lo largo del eje anteroposterior y mediolateral del techo óptico tras las cuatro inyecciones que produjeron movimientos oculares hacia arriba, abajo, oblicuo y horizontales.

Las inyecciones en sitios que produjeron movimientos oculares dirigidos hacia abajo proyectaron principalmente hacia las áreas tectales anterior y lateral (Figs. 4.29C, D y 4.31B, E; Tabla 4.2A). La densidad de botones decayó con la distancia al área de mayor densidad de marcaje. Las neuronas marcadas se localizaron principalmente en la zona que contuvo un número mayor de botones, aunque de forma más restringida que los botones (Fig. 4.31B, tabla 4.2B).

Las inyecciones en sitios que produjeron movimientos oculares oblicuos dirigidos hacia arriba proyectaron principalmente hacia la zona posterior del techo, además de a las zonas intermedia y medial del mismo (Figs. 4.30A, B y 4.31C, E; Tabla 4.2A). De nuevo, la densidad de botones decayó conforme a la distancia al área de mayor densidad de marcaje, a la vez que las neuronas se localizaron principalmente en las zonas que contuvieron un número mayor de botones (Fig. 4.31C, tabla 4.2B).

Finalmente, la inyección en zonas de la formación reticular mesencefálica cuya estimulación eléctrica produjo movimientos oculares horizontales puros proyectó más abundantemente a la zona posterior del techo. En este caso, la zona de mayor proyección se restringió al área intermedia, en el eje mediolateral del techo (Figs. 4.30E, F y 4.31D, E; Tabla 4.2A). El número de botones decayó con la distancia a la zona de más alta densidad de proyección. La localización de las neuronas solapó con la zona de mayor densidad de botones (Fig. 4.31E, tabla 4.2B).

En algunos casos (5/12), los botones y neuronas se observaron en el techo óptico contralateral (Fig. 4.26B). Aunque el marcaje fue poco abundante, los botones y neuronas tendieron a estar distribuidos de una manera simétrica punto a punto con respecto a la tendencia del techo óptico homolateral.

5. DISCUSIÓN

5.1. Estudio de la conectividad tectoreticular.

5.1.1. Consideraciones generales.

Los resultados principales obtenidos del estudio de la conectividad de las zonas tectales anteromedial y posteromedial con las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica se pueden resumir como sigue: 1) El techo óptico está conectado recíprocamente con las formaciones reticulares del mesencéfalo y rombencéfalo. Estos datos serán discutidos en relación con el patrón general de conectividad del techo óptico con la formación reticular en vertebrados; 2) Las distribuciones de los campos de botones marcados anterógradamente y de neuronas marcadas retrógradamente solapan en la formación reticular; además, los axones tectales del tracto descendente muestran botones cercanos a neuronas marcadas retrógradamente en la formación reticular mesencefálica. Estos resultados se considerarán en el marco del sustrato anatómico, tanto a nivel regional como neuronal, para un circuito de retroalimentación tectoreticular; 3) El estudio de la conectividad recíproca entre las zonas tectales anteromedial y posteromedial con la formación reticular mesencefálica revela una organización topográfica. Esta conectividad podría estar relacionada con la descodificación cartesiana de la señal vectorial del techo óptico; 4) El techo posteromedial deja más botones en la formación reticular rombencefálica homolateral y la región contralateral que rodea el núcleo motor ocular externo, que la zona anteromedial del techo óptico. Estos resultados se discutirán en relación con las hipótesis actuales de transformación espacio-temporal de la señal tectal en respuestas de orientación y escape. No obstante antes de discutir estos resultados en el marco de las hipótesis referidas, se discutirán algunos aspectos relativos a la técnica.

Consideraciones relativas a la técnica.

Estudios previos han mostrado que la biotina dextrano amina es un marcador efectivo para el transporte anterógrado (Brandt y Apkarian, 1992; Veenman y col., 1992). La comparación de los resultados presentados en este trabajo con los descritos anteriormente (Herrero y col., 1998a; Pérez-Pérez y col., 2000, 2003b) indican que el trazador se transportó a distancias lejanas del sitio de inyección, así como a las ramificaciones finas de los axones. Por otro lado, los botones cuantificados en el presente trabajo son similares en forma a los descritos previamente como terminales sinápticos (Brandt y Apkarian, 1992; Davila y col., 2002).

Los resultados obtenidos también muestran evidencias de la distribución y el número de neuronas marcadas retrógradamente en la formación reticular del mesencéfalo. Esta técnica causa probablemente un marcaje retrógrado menos efectivo que otros métodos (Herrero y col., 1999). Sin embargo, la subestimación de las células marcadas retrógradamente en este estudio no afecta a la distribución y localización de las neuronas en relación a la de los botones, ni a la presencia de células marcadas mostrando botones cercanos a ellas. Naturalmente, no se puede descartar la posibilidad de que algunos botones que contactan con células marcadas procedan de colaterales de axones reticulotectales. Además, la presencia de neuronas marcadas fuera del sitio de inyección podría interferir con los resultados relativos a la presencia de botones. Sin embargo, esta posibilidad es poco significativa, ya que el número de células marcadas en la formación reticular, y otras

estructuras no mostradas en este trabajo, fue menor del 12% del número total de células marcadas por la inyección en el techo.

5.1.2. Patrón general de conectividad del techo óptico con la formación reticular en vertebrados.

Los resultados del presente trabajo demuestran que el techo óptico está conectado recíprocamente con las formaciones reticulares del mesencéfalo y rombencéfalo. Estudios cualitativos de las eferencias tectales en peces mostraron áreas diana similares a las descritas en este estudio (Ebbesson y Vanegas, 1976; Grover y Sharma, 1979, 1981; Luiten, 1981). La vía eferente tectoreticular también se ha descrito en otras especies de vertebrados como anfibios (Dicke, 1999; Masino y Grobstein, 1990), reptiles (Sereno, 1985), aves (Masino y Knudsen, 1992), y mamíferos (Cohen y Büttner-Ennever, 1984; Kunzle, 1997; Redgrave y col., 1987). En un estudio previo (Herrero y col., 1998a), se compararon las estructuras diana obtenidas siguiendo inyecciones tectales de BDA en peces con las obtenidas en otras especies de vertebrados, llegando a la conclusión de que el techo óptico mantiene un patrón de conexiones muy conservado en los vertebrados. En general, estos estudios enfatizan la importancia de la vía tectoreticular como el sustrato neuronal que participa en la transformación de la señal tectal antes de que alcance a las motoneuronas extraoculares (Büttner-Ennever y col., 1999; Herrero y col., 1998a; Moschovakis y col., 1998; Pérez-Pérez y col., 2000).

Por otro lado, diferentes estudios muestran que el techo óptico recibe información de las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica. A pesar

de que el papel funcional de esta conexión aún no está totalmente determinado, algunos datos anatómicos (Chen y May, 2000) y fisiológicos (Soetedjo y col., 2002; Waitzman y col., 2000a) apoyan la hipótesis de que esta vía suministra, al menos en parte, una señal de retroalimentación al techo óptico que ayuda a ajustar el comando de salida tectal.

5.1.3. Sustrato anatómico para un circuito de retroalimentación tectoreticular.

Este estudio muestra que tras la inyección de BDA en las zonas funcionales tectales anteromedial y posteromedial, la distribución de los campos de botones marcados anterógradamente y los de neuronas marcadas retrógradamente solapan en la formación reticular. Además, los botones dejados por el tracto tectal descendente en la formación reticular mesencefálica se observan, en algunos casos, cercanos a neuronas marcadas retrógradamente. Similares resultados se han obtenido recientemente en monos (Chen y May, 2000), y se han interpretado como el sustrato anatómico para un circuito de retroalimentación tectoreticular, a nivel regional y neuronal. El significado funcional de este circuito podría ser el cálculo de la diferencia entre la amplitud deseada del movimiento y la ejecutada en cada instante, para codificar una señal de error motor que guiaría el movimiento del ojo hasta su diana (Jurgens y col., 1981; Robinson, 1975). Datos fisiológicos recientemente publicados en mamíferos sugieren que una señal de estas características podría estar retroalimentando el techo desde las formaciones reticulares mesencefálica (Waitzman y col., 2000a) y rombencefálica (Soetedjo y col., 2002). Estudios inmunocitoquímicos indican que la señal reticulotectal podría tener carácter inhibitorio mediado por GABA (Appell y Behan, 1990; Corvisier y

Hardy, 1991), y excitatorio mediado por acetilcolina y glutamato (Landwehr y Dicke, 2004; Marin y Gonzalez, 1999).

Por otro lado, la observación realizada en este trabajo mostrando terminales de los axones tectales eferentes junto a células contrateñidas no marcadas y marcadas sugiere que la señal tectal alcanza las neuronas de la formación reticular mesencefálica que, a su vez, envían la señal a otras estructuras del sistema oculomotor, probablemente a la formación reticular del rombencéfalo (Langer y Kaneko, 1984, 1990; May y col., 2002). Según este circuito, una copia de esta señal reticular también retroalimenta al techo.

5.1.4. Sustrato anatómico para la descodificación cartesiana de la señal vectorial del techo óptico.

El estudio de la conectividad recíproca entre las zonas tectales anteromedial y posteromedial con la formación reticular mesencefálica muestra una organización topográfica. Así, el techo anteromedial, cuya estimulación eléctrica produce movimientos oculares oblicuos con gran componente vertical y pequeño componente horizontal, conecta principalmente con la formación reticular mesencefálica anterior; por otra parte, el techo posteromedial, cuya estimulación produce movimientos oculares oblicuos con pequeño componente vertical y gran componente horizontal, está principalmente conectado con la formación reticular mesencefálica posterior. Esta conectividad topográfica podría ser la base de la descodificación de la señal tectal en coordenadas cartesianas. Evidencias funcionales obtenidas en mamíferos sugieren que estructuras del mesencéfalo rostral están implicadas en la generación

del componente vertical de los movimientos sacádicos (Büttner-Ennever y Büttner, 1978; Fukushima, 1987, Fukushima y col., 1992; Moschovakis y Highstein, 1994; Moschovakis y col., 1991a, b; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002; Waitzman y col., 2000b), mientras que las formaciones reticulares mesencefálica caudal y rombencefálica están implicadas en la generación del componente horizontal de los movimientos sacádicos (Cohen y col., 1985; Moschovakis y Highstein, 1994; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002; Waitzman y col., 1996). Estudios llevados a cabo en estas regiones en peces, sugieren también, como en mamíferos, la implicación de las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica en la generación de movimientos de orientación ojo-cuerpo (Aksay y col., 2000; Demski, 1983; Demski y Bauer, 1975; Gestring y Sterling, 1977; Pastor y col., 1994; Uematsu y Todo, 1997).

En conclusión, la hipótesis actualmente más aceptada sugiere que la señal tectal, codificada en términos espacio-vectoriales, es descodificada en un sistema cartesiano (con generadores vertical y horizontal separados) en el tronco del encéfalo para producir los movimientos de orientación del ojo y el cuerpo en todos los vertebrados estudiados (Grantyn y col., 1997; Grobstein, 1988; Herrero y col., 1998a; Masino y Knudsen, 1993; Moschovakis y Highstein, 1994; Sparks y Mays, 1990). En el marco de esta hipótesis, la organización topográfica de la conexión tectoreticular podría indicar que la formación reticular mesencefálica estaría participando en este proceso de descodificación cartesiana de la señal tectal (Handel y Glimcher, 1997; Luque y col., 2005).

5.1.5. Conectividad de las áreas tectales anteromedial y posteromedial con el rombencéfalo: Implicaciones funcionales.

Según datos anatómicos y fisiológicos, las vías tectales descendentes homolateral y contralateral, que proyectan a la formación reticular del rombencéfalo, están implicadas en diferentes funciones motoras: escape, para la homolateral, y orientación para la contralateral (Cowie y Holstege, 1992; Dean y col., 1986; Northmore y col., 1988; Roche King y Comer, 1996; Vidal y col., 1988). Dichas conexiones homolaterales y contralaterales se han descrito previamente en peces, y se ha sugerido un papel funcional para ellas similar al de otros vertebrados (Herrero y col., 1998a, b).

El techo óptico posteromedial suministra más botones a la formación reticular rombencefálica homolateral y a la región contralateral que rodea al núcleo motor ocular externo, que el techo anteromedial. Las neuronas de este área tienen características similares a aquellas encontradas en la formación reticular pontina paramediana de mamíferos (Aksay y col., 2000; Gestring y Sterling, 1977; Pastor y col., 1994). Así, teniendo en cuenta que la estimulación de la zona posteromedial del techo produce movimientos oculares con un mayor componente horizontal que la del techo anteromedial, la cantidad de botones dejados por cada área tectal en la formación reticular rombencefálica podría, venir determinada por el tamaño del componente horizontal del movimiento ocular sacádico. Esto ha sido propuesto previamente por Moschovakis y col. (1998) y se ha sugerido como un posible sustrato neuronal para la transformación de la señal espacial codificada a nivel tectal en otra temporal que module la actividad de las motoneuronas extraoculares.

Naturalmente, si esta hipótesis fuese cierta, podría según los resultados presentados aquí, extrapolarse a otras especies de vertebrados, al menos a peces como la carpa dorada.

5.2. Estudio electrofisiológico de la formación reticular del mesencéfalo.

5.2.1. Consideraciones generales.

Los resultados obtenidos muestran que la formación reticular mesencefálica está implicada en la generación de los movimientos oculares sacádicos en la carpa dorada. Movimientos oculares con diferente dirección preferente (verticales puros, horizontales puros y oblicuos) se producen desde sitios que muestran una tendencia a estar localizados en diferentes regiones de la formación reticular mesencefálica. Se han encontrado también efectos sobre la amplitud, duración, velocidad y latencia de los movimientos oculares producidos cuando se varían los parámetros de estimulación, pero no se observa efecto sobre la dirección del movimiento sacádico. Estos resultados serán discutidos con respecto a la participación de la formación reticular mesencefálica en la decodificación de la señal tectal para la generación de los componentes horizontal y vertical de los movimientos oculares, y la codificación de los movimientos sacádicos en términos temporales. Antes de abordar estos aspectos, se discutirán algunas consideraciones técnicas del método y otros aspectos generales de los resultados.

Consideraciones relativas a la técnica.

Los resultados obtenidos con la técnica de microestimulación eléctrica deben interpretarse con precaución debido a las limitaciones experimentales de esta técnica. La técnica de microestimulación eléctrica tiene varias restricciones: 1) activa de forma artificial a zonas del cerebro; 2) la activación se extiende tanto a los somas de las neuronas como a las fibras de paso; y 3) el tamaño de la zona cerebral activada depende de la corriente aplicada. A pesar de la primera restricción, esta

técnica se ha empleado con frecuencia porque imita a los eventos fisiológicos naturales (Stanford y col., 1996; Yeomans, 1990). Apoyando esta propuesta, este estudio muestra que, al menos desde la perspectiva de la salida motora, la relación entre los parámetros de los movimientos oculares espontáneos y producidos eléctricamente desde la formación reticular del mesencéfalo es similar (ver Fig. 4.23). Sin embargo, los movimientos oculares producidos podrían no deberse exclusivamente a las células localizadas en el zona estimulada, sino también a fibras que cruzan el área en la que se expande la corriente (Yeomans, 1990). De hecho, una limitación de los resultados obtenidos utilizando esta técnica en monos es que las fibras de salida del colículo superior que se dirigen hacia la protuberancia y el bulbo cruzan a través de la formación reticular mesencefálica (Cohen y col., 1986). Sin embargo, el tracto tectobulbar de la carpa dorada, que conecta el techo óptico y el rombencéfalo, rodea la formación reticular mesencefálica (Herrero y col., 1998a). En relación a la tercera restricción, y con los parámetros de estimulación empleados en este trabajo, la relación intensidad de corriente/distancia sugiere un área de excitación efectiva limitado aproximadamente a 50 μm o menos desde la punta del electrodo (Tehovnik, 1996). Todos estos datos vistos de forma conjunta permiten sugerir que los resultados no están alterados en sus conclusiones principales por las restricciones de la técnica. Además, esta técnica se ha usado previamente para estudiar las propiedades funcionales de la formación reticular mesencefálica (Cohen y col., 1985, 1986; Masino y Knudsen, 1990, 1993; Waitzman y col., 2002), y otras estructuras (revisado en Moschovakis y col., 1996) en la generación de los movimientos oculares de orientación.

Implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de movimientos oculares homolaterales y contralaterales.

Un resultado destacado mostrado en el presente estudio es que la microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica en la carpa dorada produce movimientos oculares homolaterales y contralaterales. Este resultado no está de acuerdo con aquellos obtenidos en mamíferos, en los que la formación reticular mesencefálica se relaciona principalmente con movimientos oculares contralaterales, como se ha demostrado por microestimulación eléctrica (Cohen y col., 1985; Waitzman y col., 2002), registro extracelular (Handel y Glimcher, 1997; Waitzman y col., 1996), o inactivación química (Waitzman y col., 2000a). Esta disparidad entre nuestros resultados y los obtenidos en monos podría sugerir un carácter específico. De hecho, los resultados presentados en este trabajo están de acuerdo con los que muestran que la estimulación de la formación reticular mesencefálica produce movimientos homolaterales y contralaterales de las aletas en los peces (Bernau y col., 1991; Uematsu y Todo, 1997), así como movimientos de la cabeza en ambas direcciones en la lechuza (Masino y Knudsen, 1990, 1993).

La principal diferencia entre las propiedades fisiológicas de los movimientos oculares homolaterales y contralaterales es su latencia. En general, los movimientos homolaterales muestran mayor retraso en su iniciación tras el estímulo. Este resultado podría indicar que el circuito requerido para alcanzar las motoneuronas extraoculares implica más elementos neuronales en el caso de este tipo de movimientos oculares. Una posibilidad sería que la señal tuviese que alcanzar el

lado contralateral del tronco cerebral, y esto aumentaría el retraso debido a un mayor procesamiento sináptico (Scudder y col., 2002).

Implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de movimientos oculares disyuntivos o monoculares.

Otro hallazgo importante es que la estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica produce con gran frecuencia movimientos oculares disyuntivos, y de forma ocasional movimientos sacádicos monoculares. Estudios previos en mamíferos no han presentado evidencias sobre la conjugación del movimiento ocular producida desde la formación reticular del mesencéfalo, bien porque se registró un solo ojo (Waitzman y col., 2002), o porque se emplearon técnicas de menor capacidad de resolución (Cohen y col., 1985). En peces anestesiados, un estudio previo (Demski y Bauer, 1975) mostró que la microestimulación eléctrica de algunos puntos de la formación reticular mesencefálica produce movimientos oculares monoculares o disyuntivos, al igual que los datos presentados aquí. De hecho, la presencia de movimientos disyuntivos no es del todo sorprendente, ya que durante los movimientos sacádicos espontáneos (Mensh y col., 2004) y tras el reflejo vestibular (Pastor y col., 1992) en la carpa dorada se observa desigualdad en las propiedades métricas y cinéticas de ambos ojos.

Una posible interpretación de estos resultados podría surgir de los registros de neuronas premotoras en la formación reticular pontina paramediana, que sugiere que los movimientos sacádicos se producen a través de una red de control premotor

monocular (King y Zhou, 2002; Zhou y King, 1998). Una hipótesis que explicaría los resultados presentados es que la estimulación de la formación reticular mesencefálica podría generar una activación inadecuada de la red de control premotor contralateral (disyuntivos), o que la señal no alcance a dicho sistema contralateral (monocular).

5.2.2. Influencia del sitio de estimulación en la formación reticular del mesencéfalo sobre la dirección del vector del movimiento sacádico.

La presencia de zonas funcionales dentro de la formación reticular mesencefálica central se ha demostrado en un estudio previo en monos combinando técnicas de estimulación eléctrica y neuroanatómicas (Cohen y Büttner-Ennever, 1984). Esta propuesta ha sido apoyada posteriormente por estudios fisiológicos usando diferentes metodologías como la estimulación eléctrica (Cohen y col., 1985; Waitzman y col., 2002), inactivación reversible (Waitzman y col., 2000a, b) y registro extracelular (Handel y Glimcher, 1997; King y Fuchs, 1979; Scudder y col., 1996a; Waitzman y col., 1996). Los datos de estos estudios permiten concluir que las neuronas del polo anterior de la formación reticular mesencefálica central de monos muestran una actividad fisiológica asociada con movimientos sacádicos verticales, mientras que los movimientos sacádicos con direcciones preferentes horizontales y oblicuas se producen desde las zonas posterior y medial de la formación reticular mesencefálica.

En este estudio, los sitios que producen movimientos oculares sacádicos con diferente dirección preferente (verticales, horizontales u oblicuos) tienden a estar

localizados en regiones distintas de la formación reticular mesencefálica. Así, los movimientos oculares verticales y horizontales puros son producidos principalmente desde la formación reticular mesencefálica anterior y posterior, respectivamente. Los movimientos oculares oblicuos son producidos principalmente desde el tercio medial de la formación reticular mesencefálica. Además, los movimientos oblicuos con un gran componente vertical tienden a producirse desde sitios mediales y ventrales en relación a aquellos desde los que se producen movimientos oblicuos con gran componente horizontal. Estos resultados obtenidos en la carpa son, por tanto, semejantes a los encontrados en monos. La organización funcional encontrada podría sugerir la participación de regiones de la formación reticular mesencefálica en descifrar la señal tectal en un código cartesiano (ver sección 5.2.3). Además estos resultados también sugieren que los mecanismos de decodificación de la señal tectal en la formación reticular mesencefálica podrían aparecer pronto en la filogenia de vertebrados.

5.2.3. Movimientos oculares verticales y horizontales puros: Hipótesis sobre la decodificación de la señal tectal en componentes cartesianos horizontales y verticales.

Está ampliamente aceptado que los movimientos oculares se codifican en el techo óptico en un mapa ordenado topográficamente. Esta codificación tectal espacio-vectorial de los movimientos debe transformarse en un dominio temporal para dirigir la actividad de las motoneuronas (Sparks y Gandhi, 2003). Una serie de evidencias sugieren que esta transformación requiere una decodificación de la señal tectal en un sistema cartesiano, en el que los componentes vertical y

horizontal de los movimientos son codificados por poblaciones neuronales separadas en el tronco del encéfalo (Scudder y col., 2002; Sparks, 2002; Sparks y Mays, 1990). Los datos mostrados aquí permiten sugerir que la formación reticular mesencefálica podría participar en esta decodificación.

Como se indicó anteriormente, la estimulación eléctrica de zonas cercanas al núcleo del fascículo longitudinal medial, es decir, en el mesencéfalo anterior, produce movimientos oculares verticales puros, dirigidos hacia arriba o hacia abajo. Además, la estimulación de la formación reticular mesencefálica, particularmente su parte posterior, produce movimientos oculares horizontales puros. Estudios previos en peces, tanto anestesiados como alerta, demostraron la implicación de esta estructura en ambos tipos de movimientos oculares (Demski, 1982; Demski y Bauer, 1975). La asociación del mesencéfalo con la generación de los movimientos oculares horizontales y verticales ha sido demostrada previamente en mamíferos. Así, usando técnicas de registro extracelular, estimulación eléctrica e inactivación química reversible en el mesencéfalo rostral, incluyendo la formación reticular mesencefálica central, el núcleo del fascículo longitudinal medial y el núcleo intersticial de Cajal, se ha sugerido su implicación en la generación del componente vertical de los movimientos de orientación (Büttner-Ennever y Büttner, 1978; Fukushima y col., 1992; Isa y Sasaki, 2002; King y Fuchs, 1979; Masino y Knudsen, 1990, 1993; Moschovakis y col., 1991a, b; Scudder y col., 1996a, 2002; Waitzman y col., 2000b, 2002). Así, se puede concluir que el generador del componente vertical de los movimientos de orientación está localizado en el mesencéfalo rostral, y que apareció en el ancestro común de peces y vertebrados terrestres.

La microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica también produce movimientos oculares horizontales en mamíferos (Cohen y col., 1985; Waitzman y col., 2002). Estudios del patrón de actividad extracelular de neuronas localizadas en la región posterior de la formación reticular mesencefálica central han mostrado que está relacionada con el componente horizontal de los movimientos oculares (Waitzman y col., 1996). El papel funcional real de esta región en la generación del componente horizontal no está aún del todo determinado, ya que se acepta que el generador del componente horizontal está localizado en la formación reticular pontina paramediana (Scudder y col., 1996b, 2002; Sparks, 2002; Sparks y Mays, 1990). Por eso, podría ser que, como se ha sugerido en estudios previos (Chen y May, 2000; Waitzman y col., 2000a, 2002), la formación reticular mesencefálica transmita la señal del componente horizontal desde la salida tectal hasta la formación reticular pontina paramediana. Tal relevo también sería una característica común con los ancestros vertebrados (Pérez-Pérez y col., 2003a).

Diferentes aspectos de los movimientos oculares producidos desde la formación reticular mesencefálica presentados aquí deben ser ampliados: 1) ni la dirección ni la amplitud de los movimientos sacádicos verticales puros y horizontales puros se ven afectadas por la posición inicial del ojo en la órbita; 2) los movimientos sacádicos verticales no mantienen la posición final del ojo en la órbita; 3) la amplitud del movimiento sacádico no es dependiente de la localización del sitio de estimulación. El primer resultado, la dirección de los movimientos sacádicos producidos desde la formación reticular mesencefálica no se modifica con la posición inicial del ojo en la órbita, está de acuerdo con lo encontrado para los movimientos

de orientación de la cabeza en lechuzas (Masino y Knudsen, 1990, 1993). La ausencia de efectos de la posición inicial del ojo en la órbita sobre la amplitud de los movimientos oculares verticales y horizontales puros sugiere que, en las regiones de la formación reticular mesencefálica implicadas en la generación de estos movimientos sacádicos, la información estaría codificada aún en coordenadas retinotópicas, como en el techo óptico. Además, apoyaría el papel de la formación reticular mesencefálica como núcleo de relevo para transmitir señales coliculares antes de alcanzar estructuras premotoras que directamente las envíen a motoneuronas extraoculares (Scudder y col., 2002; Waitzman y col., 2000a).

El curso temporal de los componentes vertical y horizontal de los movimientos sacádicos es también distinto: a diferencia de los horizontales, los movimientos sacádicos verticales no mantienen la posición final del ojo tras el movimiento. En mamíferos, la generación de movimientos sacádicos verticales implica diferentes estructuras del mesencéfalo, tales como el núcleo intersticial rostral del fascículo longitudinal medial (fuente de la señal de pulso) y el núcleo intersticial de Cajal, además de la formación reticular mesencefálica anterior (Moschovakis y col., 1996; Scudder y col., 2002; Sparks, 2002). En la carpa dorada, el núcleo del fascículo longitudinal medial podría estar implicado en la generación de los movimientos sacádicos de acuerdo con su conectividad (Torres y col., 1992, 1995). No obstante, no se han demostrado ni homologías anatómicas ni similitudes funcionales con respecto al núcleo intersticial rostral del fascículo longitudinal medial de mamíferos. Además, el núcleo intersticial de Cajal en la carpa dorada no se ha identificado. Este núcleo se propone como el integrador de la señal de pulso vertical que proporciona

el comando de posición que mantiene la posición vertical del ojo (Fukushima y col., 1992). La ausencia de este núcleo en la carpa dorada podría justificar los resultados que muestran un desplazamiento del componente vertical del movimiento hacia el meridiano horizontal del ojo en la órbita después de cada estimulación eléctrica que produce movimientos sacádicos con componente vertical.

En monos, se observó un aumento en el tamaño de los movimientos sacádicos de pequeño a grande con el desplazamiento del electrodo de estimulación de dorsal a ventral en la formación reticular mesencefálica central (Cohen y col., 1985). En peces, las amplitudes de los movimientos sacádicos verticales y horizontales puros, así como la de los movimientos oculares oblicuos no se modifican con el desplazamiento del electrodo de estimulación a lo largo de los diferentes ejes de la formación reticular mesencefálica. La ausencia de una codificación topográfica de la amplitud del movimiento sacádico dentro de la formación reticular mesencefálica de la carpa dorada aumenta la importancia del control de las características del movimiento sacádico por un código temporal en la formación reticular mesencefálica (Sparks y Gandhi, 2003).

5.2.4. Movimientos oculares oblicuos: Hipótesis sobre la integración o relevo de la señal tectal.

Los resultados presentados en este estudio muestran que una proporción elevada de sitios estimulados localizados de forma preferente en la región medial y caudal del mesencéfalo producen movimientos oculares oblicuos con direcciones diferentes. Estudios de actividad extracelular de neuronas en la formación reticular

mesencefálica han mostrado la existencia de células cuyo patrón de disparo está relacionado con movimientos oculares oblicuos (Handel y Glimcher, 1997). La inactivación reversible de la zona medial y posterior de la formación reticular mesencefálica produce movimientos oculares hipermétricos en el plano oblicuo (Waitzman y col., 2000a). Además, neuronas en la formación reticular pontina paramediana muestran actividad relacionada con movimientos oculares oblicuos (Scudder y col., 2002; Van Gisbergen y col., 1981). En conjunto, se puede sugerir que el patrón de disparo de las neuronas relacionadas con los movimientos oblicuos podría venir de la integración de las señales procedentes de los generadores vertical y horizontal antes de alcanzar las motoneuronas extraoculares. Otra posibilidad sería que estas neuronas podrían recibir directamente la señal tectal que codifica los movimientos oculares oblicuos para enviarla a los generadores vertical y horizontal.

La influencia de la posición inicial del ojo en la órbita sobre el tamaño del movimiento sacádico oblicuo será discutida en el mismo marco teórico que el propuesto para los movimientos dirigidos a una meta (ver sección 5.2.6).

5.2.5. Movimientos oculares de convergencia: Hipótesis para la localización de un centro rector de vergencias.

La estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica rostral al núcleo oculomotor y principalmente su zona medial, situada bajo el núcleo del fascículo longitudinal medial, produce movimientos oculares de convergencia. Movimientos de convergencia ocular, producidos desde esta área, se han descrito en otras especies de peces (Demski, 1983). Los movimientos oculares de

convergencia en animales de visión frontal permiten mantener la visión binocular mientras un objeto se acerca o se aleja (Busetini y col., 1996; Yuan y Semmlow, 2000). En peces como la carpa dorada, los movimientos oculares de convergencia se producen desde la región anteromedial del techo. Esto implica que la zona que proyecta más abundantemente a la región rostral de la formación reticular mesencefálica en peces, también se relaciona con la generación de movimientos oculares de convergencia (Herrero y col., 1998a; Torres y col., 2002). Se ha propuesto que, en animales cuyos ojos se localizan lateralmente en la cabeza, estos movimientos se generan, llevando los ojos a posición nasal, para poder obtener una visión binocular que les permita una correcta maniobra de aproximación y captura de presa (Herrero y col., 1998b; Rodríguez, 1996). Los resultados mostrados en el presente estudio señalan, además, que el centro premotor de las convergencias se localiza en la región rostral de la formación reticular del mesencéfalo. La falta de evidencias en otras especies hace imposible probar si esta localización es generalizada en otras clases de vertebrados.

5.2.6. Movimientos oculares dirigidos a una meta: Hipótesis sobre un mecanismo de retroalimentación.

Un último tipo de movimientos oculares encontrado en este trabajo son aquellos que llevan el ojo hasta una meta predeterminada, es decir, que son homolaterales o contralaterales, y con una amplitud variable, dependiendo de la posición inicial del ojo en la órbita en relación a la meta deseada. Estos movimientos oculares pueden ser horizontales puros u oblicuos. Estudios preliminares de microestimulación eléctrica en mamíferos han mostrado también la génesis de este

tipo de movimientos oculares desde la formación reticular mesencefálica (Waitzman y col., 2002). Por otro lado, estudios de microestimulación realizados en aves han encontrado giros de la cabeza hacia una meta determinada cuando se estimulan ciertas regiones del rombencéfalo (Masino y Knudsen, 1993). Los movimientos oculares dirigidos a una meta se describieron inicialmente tras la estimulación de la región posterior del colículo en mamíferos (Guitton y col., 1980). Se ha propuesto que los movimientos oculares dirigidos a una meta son generados cuando la zona cerebral activa produce movimientos de orientación, que implican el giro de los ojos y la cabeza, que llevan la mirada más allá del rango oculomotor (Roucoux y col., 1980). De hecho, se ha demostrado una atenuación del efecto de la posición inicial sobre las características del movimiento dirigido a una meta cuando los animales tienen la cabeza libre de movimiento (Freedman y col., 1996). Por tanto, los efectos de la posición inicial podrían deberse al diseño experimental en el que la cabeza o el cuerpo se encuentran inmovilizados. En resumen, el efecto de la posición inicial sobre los movimientos sacádicos se ha explicado en base a un circuito de retroalimentación en preparaciones con el movimiento de la cabeza restringido (McIlwain, 1988, 1990) o como la codificación de una señal del desplazamiento deseado de la mirada en preparaciones con el movimiento de la cabeza libre (Freedman et al., 1996; Waitzman et al., 2002). Nuevos estudios son necesarios para determinar si los efectos de la posición inicial observados en el presente trabajo se podrían atribuir a una u otra hipótesis.

5.2.7. Efectos de los parámetros de estimulación sobre las características métricas y cinéticas de los movimientos oculares.

Los resultados del presente trabajo demuestran que el incremento (en un cierto rango) de la frecuencia e intensidad de estimulación, aumenta (hasta alcanzar un cierto nivel meseta) la amplitud, velocidad, y duración del movimiento ocular, y disminuye la latencia. Estos resultados sugieren que las características métricas y cinéticas de los movimientos oculares pueden ser modificadas en la formación reticular mesencefálica por influencia de la frecuencia de descarga de las neuronas premotoras o del número de neuronas activas (Yeomans, 1990). Esto podría significar que el código espacial usado por el techo óptico (Guitton y col., 1980; Robinson, 1972; Salas y col., 1997) es transformado en un código temporal, al menos en parte, en la formación reticular mesencefálica antes de alcanzar las motoneuronas (Pathmanathan y Waitzman, 2003). Estos resultados están de acuerdo con aquellos que muestran que el número de potenciales de acción, o su distribución en el tiempo (generados por las neuronas de brote) codifican la amplitud del movimiento ocular (King y Fuchs, 1979; Sparks y Gandhi, 2003; Zhou y King, 1998). Por supuesto, esto indicaría que este mecanismo debería ser aplicable a la actividad de las neuronas premotoras en la formación reticular mesencefálica de los peces.

El aumento de la duración del estímulo produce un aumento en la amplitud, velocidad, y duración del movimiento ocular, hasta alcanzar un nivel meseta. Sin embargo, la velocidad alcanza el nivel meseta con estímulos más cortos que el resto de los parámetros oculares (amplitud y duración). Resultados similares se obtuvieron

variando los parámetros de estimulación en el techo óptico de los mamíferos y aves (Du Lac y Knudsen, 1990; Paré y col., 1994; Stanford y col., 1996). Se ha sugerido que los movimientos oculares obtenidos modificando la duración del estímulo son movimientos sacádicos cuya trayectoria se ha truncado (Paré y col., 1994), y no son naturales (Du Lac y Knudsen, 1990). De hecho, estos movimientos oculares son en realidad artificiales, ya que la relación entre la amplitud y la velocidad es diferente a la observada en movimientos oculares espontáneos en peces (Fig. 4.23; Salas y col., 1992, 1997) y no sigue las relaciones biomecánicas demostradas en mamíferos (Fuchs, 1967) o en peces (Mensh y col., 2004). En resumen, estos resultados sugieren que en la formación reticular mesencefálica la amplitud y velocidad de los movimientos sacádicos está codificada en aspectos diferentes de la actividad reticular (King y Fuchs, 1979).

5.2.8. Algunos aspectos evolutivos sobre la implicación de la formación reticular del mesencéfalo en la generación de los movimientos oculares.

Este es el primer estudio sobre la implicación de la formación reticular mesencefálica en la generación de movimientos oculares en una especie de vertebrados, excluyendo a mamíferos. Estudios preliminares se han centrado en determinar los efectos de su estimulación eléctrica en el desplazamiento de la cabeza en aves (Masino y Knudsen, 1990, 1993), o de su lesión sobre la ejecución de la respuesta de orientación en anfibios (Kostyk y Grobstein, 1987). El presente trabajo permite sugerir que algunas propiedades fisiológicas de la formación reticular mesencefálica de la carpa dorada en la generación del movimiento sacádico y/o de orientación son similares a aquellas mostradas en mamíferos. Se podría concluir que

estas funciones aparecieron pronto durante la filogénesis y se han conservado a través de la evolución de los vertebrados. Sin embargo, algunos resultados necesitan más estudios para extender este principio, o por el contrario, reforzar caracteres específicos adaptativos. En particular, la implicación de la formación reticular mesencefálica en la generación de movimientos oculares homolaterales, además de contralaterales; la codificación dentro de la formación reticular mesencefálica de los movimientos oculares conjugados o disyuntivos en vertebrados de visión frontal; la codificación temporal de las características de los movimientos sacádicos en la frecuencia de disparo de las neuronas de la formación reticular mesencefálica.

5.3. Estudio de la conectividad entre la formación reticular del mesencéfalo y el techo óptico.

5.3.1 Consideraciones generales.

Este trabajo estudia las conexiones establecidas entre las diferentes áreas funcionales identificadas de la formación reticular mesencefálica y el techo óptico en la carpa dorada. Los resultados principales se pueden resumir como sigue: 1) La formación reticular mesencefálica está conectada recíprocamente, mediante un haz de fibras separadas, principalmente con el techo homolateral; 2) La formación reticular mesencefálica recibe proyecciones, principalmente de neuronas localizadas en las capas tectales intermedias (estrato gris central) y profundas (estrato periventricular). Además, la formación reticular mesencefálica proyecta principalmente a las capas tectales intermedias, en particular a los estratos gris central y blanco central; 3) La distribución de neuronas marcadas en el techo óptico, que proyectan a diferentes áreas funcionales identificadas de la formación reticular mesencefálica, es consistente con el mapa motor tectal. La formación reticular mesencefálica proyecta al techo óptico distribuyendo sus botones en regiones de alta y baja densidad. La región tectal que contiene una alta densidad de botones solapa con el área en la que se localizan neuronas marcadas retrógradamente. Las zonas de menor densidad de botones se extienden ampliamente en el techo homolateral a la inyección; 4) Ocasionalmente, los botones sinápticos se encuentran cerca de neuronas marcadas en el techo óptico. Estos resultados serán discutidos en el marco de las hipótesis actuales propuestas sobre la implicación de la formación reticular mesencefálica en el control de los movimientos oculares

sacádicos. No obstante, en primer lugar se discutirán algunas consideraciones técnicas.

Consideraciones técnicas.

Como se ha discutido anteriormente (ver sección 5.1.1): 1) La BDA es un trazador anterógrado muy efectivo; 2) Estudios de microscopía electrónica sugieren que los botones marcados con BDA son terminales sinápticos; 3) La técnica permite estudiar la distribución y localización relativa de botones marcados anterógradamente y neuronas marcadas retrógradamente.

Un aspecto que hay que tener en consideración para las inyecciones en la formación reticular del mesencéfalo es la presencia de axones de paso, así como el marcaje procedente de neuronas alejadas del sitio de inyección. Los resultados de la estimulación eléctrica en monos se han interpretado con precaución debido a que las fibras de salida del colículo superior dirigidas al rombencéfalo cursan a través de la formación reticular mesencefálica (Cohen y col., 1986). Así, las propiedades funcionales de la zona inyectada podrían no deberse exclusivamente a las células que se encuentran en la zona estimulada sino también a las fibras que cruzan el área a la que llega la corriente (Yeomans, 1990, sección 5.2.1). De forma similar, los campos de botones podrían no ser necesariamente atribuidos a la proyección de células del área inyectada, sino también a neuronas que cruzan esta región para alcanzar el techo óptico o incluso a las neuronas tectales que proyectan al sitio de inyección y dejan también axones colaterales que terminan en el techo óptico. Aunque estas limitaciones son inherentes a la técnica, la trayectoria del tracto

tectobulbar que conecta el techo óptico y el rombencéfalo (véase apartado siguiente) es diferente a la vía que conecta el techo óptico y la formación reticular del mesencéfalo, sugiriendo que, al menos, el marcaje de neuronas y botones encontrados en el techo no procede de sus conexiones con el rombencéfalo. Por otro lado, el marcaje retrogrado en el mesencéfalo y prosencéfalo lejos del sitio de inyección fue escaso por lo que se puede concluir que estas fuentes tampoco influyeron en los resultados obtenidos.

5.3.2. Trayectoria axonal.

Un gran número de pruebas sugiere que en la carpa dorada, al menos, dos vías separadas conectan el techo óptico y las formaciones reticulares mesencefálica y rombencefálica. En primer lugar, la trayectoria de los axones que conectan el techo óptico y la formación reticular mesencefálica (ver figura 4.25) y la de los que conectan el techo óptico y la formación reticular rombencefálica (ver Fig. 5A, B en Herrero y col., 1998a; y Fig. 2A en Pérez-Pérez y col., 2000) son distintas. En segundo lugar, el diámetro de los axones marcados en este caso es similar al obtenido para las fibras tectales que se dirigen al rombencéfalo. Este dato indica que estos axones, en su gran mayoría, no son colaterales de los axones tectobulbares. De hecho, el porcentaje de axones marcados que cursan por el tracto tectobulbar con respecto a aquellos que conectan el techo y la formación reticular mesencefálica es menor del 10%.

Estudios de marcaje con marcadores fluorescentes en roedores también sugieren la presencia de dos vías para conectar el techo óptico y las formaciones

reticulares mesencefálica y rombencefálica (Redgrave y col., 1987). Por otro lado, se ha propuesto que dos o tres vías diferentes, según los estudios, alcanzan la formación reticular del rombencéfalo desde el colículo superior en mamíferos (Bickford y Hall, 1989; Cowie y Holstege, 1992; May y Porter, 1992; Redgrave y col., 1986). Sin embargo, estos estudios no excluyen la posibilidad de que los axones tectales que proyectan al rombencéfalo dejen colaterales en la formación reticular mesencefálica como se ha encontrado en mamíferos (Grantyn y Grantyn, 1982; Moschovakis y col., 1988), y en peces (Niida y col., 1989).

5.3.3. Distribución de las neuronas y botones marcados en las capas tectales.

La fuente más abundante de proyecciones a la formación reticular mesencefálica es la capa periventricular (75%), siendo las neuronas del estrato gris central (24,5%), en particular las células bipolares, otra salida tectal importante. La localización de las neuronas tectofugales mostrada aquí está de acuerdo con las encontradas en estudios previos proyectando a diferentes estructuras del cerebro (Grover y Sharma, 1981; Herrero y col., 1999; Ito y col., 1986; King y Schmidt, 1993; Luiten, 1981; Murakami y col., 1986; Niida y col., 1989; Striedter, 1990; Wulliman y Northcutt, 1990). Según la clasificación de los tipos morfológicos celulares descritos en el techo óptico de la carpa dorada con la técnica de impregnación Golgi (Meek y Schellart, 1978), las neuronas piriformes marcadas retrógradamente en este estudio se corresponden con el tipo XIV, las neuronas bipolares del estrato gris central con el tipo XII, las neuronas esféricas en el estrato gris central con los tipos IX y X y las neuronas de los estratos blanco central y gris superficial con los tipos XIII y tipo IV.

La distribución laminar de las neuronas tectales que proyectan a través de las vías descendentes al mesencéfalo, rombencéfalo y médula espinal se ha determinado en un número de especies incluyendo anfibios (Dicke, 1999; Dicke y Roth, 1996), reptiles (Northcutt, 1984; Reiner, 1994; Sereno y Ulinski, 1985), aves (Reiner y Karten, 1982) y mamíferos (Bickford y Hall, 1989; Jiang y col., 1997; May y Porter, 1992; Nudo y Masterton, 1989; Olivier y col., 1994; Redgrave y col., 1986, 1988). Debido al amplio rango de morfologías y al número variable de capas tectales presentes en los vertebrados, no se puede realizar una comparación directa de estos resultados con los presentados anteriormente. Sin embargo, todos los datos coinciden en indicar que las capas tectales intermedias, representadas aquí por el estrato gris central, y profundas, estrato periventricular, de los vertebrados son la principal fuente de neuronas que proyectan a otras estructuras troncoencefálicas. Además, se acepta que estas neuronas juegan un papel principal en la generación de las respuestas de orientación, que incluyen el desplazamiento de los ojos, cabeza y/o el cuerpo, o en la respuesta de escape, tanto en peces (Herrero y col., 1998b; Salas y col., 1997) como mamíferos (Dean y col., 1989; Hall y Moschovakis, 2004).

La formación reticular mesencefálica de la carpa dorada es un área tectorecipiente y contiene neuronas que a su vez, proyectan al techo óptico (Pérez-Pérez y col., 2003b). Estas conexiones recíprocas son una característica común a través de los vertebrados (ver introducción). Los axones de neuronas reticulotectales en mamíferos dan lugar a colaterales que terminan en las capas intermedias y profundas del techo óptico homolateral y contralateral en mamíferos (Moschovakis y col., 1988), reptiles (Dacey y Ulinski, 1986) y peces (Niida y Ohono, 1984). De

acuerdo con estas observaciones, los datos que se muestran aquí revelan que, independientemente del sitio de inyección en la formación reticular mesencefálica, la diana principal de proyección es el estrato gris central, seguido de mayor a menor por los estratos blanco central, periventricular, fibroso y gris superficial, óptico y marginal. La distribución de campos terminales de alta densidad solapa con la de las neuronas tectoreticulares. Además, los botones sinápticos se encuentran cerca del soma y las dendritas de algunas de estas neuronas. Ambos tipos de evidencias se han interpretado como un sustrato anatómico para un circuito de retroalimentación a nivel regional y neuronal (Chen y May, 2000; Pérez-Pérez y col., 2003b), cuyas implicaciones funcionales son consideradas en el siguiente apartado.

5.3.4. Localización de botones y neuronas en el techo óptico según el sitio de inyección: Posibles implicaciones funcionales.

Estudios previos en monos han mostrado que las propiedades funcionales de la formación reticular mesencefálica determinan la localización de las neuronas tectales que proyectan a él, así como las proyecciones de neuronas reticulotectales (Cohen y Büttner-Ennever, 1984; Cohen y col., 1986; Moschovakis y col., 1988). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en el presente trabajo, que muestran que la localización de neuronas y botones en el techo óptico está influida por las propiedades fisiológicas de las zonas inyectadas. Estas conexiones dependientes del sitio inyectado son, a su vez, congruentes con la representación del mapa motor en el techo óptico. Así, los sitios de la formación reticular mesencefálica desde los que se obtienen movimientos sacádicos dirigidos hacia arriba, hacia abajo u horizontales reciben aferencias de áreas del techo óptico

implicadas en la generación del correspondiente tipo de movimiento (Salas y col., 1997). De la misma manera, las regiones de la formación reticular mesencefálica que producen cada tipo de movimiento proyectan con una gran densidad de botones a la correspondiente región del techo óptico. Sin embargo, los botones no quedan confinados en una región tectal, sino que están presentes a lo largo del techo óptico en una densidad mucho menor. Estos datos junto con el solapamiento de botones y neuronas en su distribución laminar, y la presencia de botones cercanos a neuronas tectales, apoyan la probable contribución de la formación reticular mesencefálica al control de la salida tectal por circuitos de retroalimentación. Estudios inmunocitoquímicos revelan que las neuronas de la formación reticular mesencefálica que proyectan al techo óptico son inhibitorias o excitatorias (Appell y Behan, 1990; Landwehr y Dicke, 2004), sugiriendo la presencia de ambos tipos de circuitos de retroalimentación. La participación directa del colículo superior y la formación reticular mesencefálica en la vía de retroalimentación local que controla los movimientos sacádicos se ha propuesto previamente mediante estudios anatómicos y fisiológicos en monos (Chen y May, 2000; Moschovakis y col., 1988; Waitzman y col., 1991, 1996, 2000a).

6. CONCLUSIONES

1. La inyección del trazador neuronal biotina dextrano amina (BDA) en el techo óptico demuestra que esta estructura proyecta a las formaciones reticulares del mesencéfalo y del rombencéfalo. La comparación del número de botones contados en cada área sugiere que la formación reticular del mesencéfalo es una estructura tectorecipiente de gran importancia. Por otro lado, estas regiones reticulares proyectan, a su vez, al techo óptico, siendo nuevamente el área mesencefálica la fuente cuantitativamente más importante de aferencias tectales desde el tronco del encéfalo. Este patrón de conexiones tectales es similar al descrito en otras especies de vertebrados.

2. El estudio de la conectividad tectal muestra que las distribuciones de los campos de botones y neuronas en las formaciones reticulares del mesencéfalo y rombencéfalo están solapadas. Además, algunas neuronas marcadas retrógradamente desde el techo muestran botones cercanos. Ambos resultados sugieren la presencia de un circuito de retroalimentación tectoreticulotectal. Este circuito de retroalimentación modularía la señal premotora de salida tectal.

3. El estudio de la conectividad eferente del techo hacia la formación reticular del mesencéfalo muestra conexiones organizadas topográficamente. Esta organización anatómica sugiere que las señales tectales son descodificadas en un sistema de coordenadas cartesianas a nivel de la formación reticular mesencefálica. Por su parte, las aferencias reticulotectales también se distribuyen ordenadas topográficamente sugiriendo que el circuito de retroalimentación también depende de las propiedades funcionales de cada área reticular.

4. La microestimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica produce movimientos oculares, de características semejantes a los espontáneos, con diferentes direcciones.

5. Los movimientos oculares con diferente dirección tienden a agruparse en zonas diferentes de la formación reticular mesencefálica. Así, los movimientos verticales puros se producen principalmente desde la región anterior, mientras que los oblicuos y horizontales tienden a situarse en las áreas medial y caudal. Esta separación funcional conjuntamente con la distribución topográfica de entradas tectales sugieren el papel de esta estructura en la descodificación cartesiana de la señal tectal.

6. La amplitud de los movimientos oculares verticales, horizontales y oblicuos es independiente del sitio estimulado. Es decir, la codificación de la amplitud del movimiento no responde a un código espacial. Por otro lado, la amplitud de los movimientos verticales y horizontales puros no se afecta por la posición inicial del ojo en la órbita, mientras que los oblicuos si se alteran por dicha posición inicial. Estos datos sugieren que los generadores vertical y horizontal de la formación reticular codifican el movimiento en coordenadas retinotópicas, mientras que para la generación de los movimientos oblicuos son necesarias probablemente señales de integración sujetas a los sistemas de retroalimentación.

7. Desde la formación reticular del mesencéfalo también se producen movimientos de convergencia ocular y dirigidos a una meta. Los movimientos de convergencia ocular se producen desde sitios localizados en el área reticular cercana al polo

anterior del núcleo oculomotor, mientras que los dirigidos a una meta se producen desde sitios localizados principalmente caudales y ventrales en la formación reticular.

8. Las características métricas y cinéticas del movimiento ocular se modifican con los parámetros de estimulación. Esto podría significar que el código espacial usado por el techo óptico se transforma en un código temporal en la formación reticular mesencefálica.

9. Las diferencias obtenidas al cambiar la frecuencia e intensidad del estímulo en relación a las observadas tras modificar la duración del mismo sobre el movimiento ocular sugieren que la amplitud y velocidad del sacádico se codifican en aspectos temporales diferentes de la actividad reticular.

10. Tras la inyección del trazador BDA en la formación reticular del mesencéfalo se observa que la fuente principal de entradas tectales a esta región procede de neuronas situadas en los estratos periventricular y gris central. Estos datos confirman lo descrito en otras especies de vertebrados y sugieren que en estos estratos intermedios y profundos se localiza la salida motora del techo. Los resultados presentados indican, además, que estos estratos son las capas receptoras principales de las eferencias reticulares.

11. La trayectoria de los axones que conectan la formación reticular del mesencéfalo y el techo óptico es diferente de la vía tectobulbar. Por tanto, el techo óptico de los

peces podría enviar señales diferentes a las formaciones reticulares del mesencéfalo y rombencéfalo.

12. El trazado anatómico desde la formación reticular confirma la observación previa que indica que la vía tectoreticular es dependiente de las propiedades funcionales del área tectal. Así, las neuronas tectales que proyectan a regiones reticulares que producen movimientos verticales, hacia arriba o abajo, oblicuos u horizontales se localizan de acuerdo al mapa motor en el techo. Por otro lado, la distribución de botones observada en el techo sugiere que el sistema de retroalimentación reticulotectal se configura también de acuerdo a las propiedades funcionales de cada área reticular.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aksay, E., Baker, R., Seung, H.S. y Tank, D.W. (2000) Anatomy and discharge properties of premotor neurons in the goldfish medulla that have eye-position signals during fixations. *J Neurophysiol* 84, 1035-1049.
- Aksay, E., Baker, R., Seung, H.S. y Tank, D.W. (2003) Correlated discharge among cell pairs within the oculomotor horizontal velocity-to-position integrator. *J Neurosci* 23, 10852-10858.
- Al-Akel, A.S., Guthrie, D.M. y Banks, J.R. (1986) Motor responses to localized electrical stimulation of the tectum in the freshwater perch (*Perca fluviatilis*). *Neuroscience* 19, 1381-1391.
- Appell, P.P. y Behan, M. (1990) Sources of subcortical GABAergic projections to the superior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 302, 143-158.
- Bastian, J. (1982) Vision and electroreception: integration of sensory information in the optic tectum of the weakly electric fish *Apteronotus albifrons*. *J Comp Physiol* 147: 287-297.
- Beck, J.C., Gilland, E., Tank, D.W., y Baker, R. (2004) Quantifying the ontogeny of optokinetic and vestibuloocular behaviors in zebrafish, medaka, and goldfish. *J Neurophysiol* 92, 3546-3561.
- Bernau, N.A., Puzdrowski, R.L. y Leonard, R.B. (1991) Identification of the midbrain locomotor region and its relation to descending locomotor pathways in the Atlantic stingray, *Dasyatis sabina*. *Brain Res* 557, 83-94.
- Bickford, M.E. y Hall, W.C. (1989) Collateral projections of predorsal bundle cells of the superior colliculus in the rat. *J Comp Neurol* 283, 86-106.
- Bleckmann, H. y Zelik, R. (1993) The responses of peripheral and central mechanosensory lateral line units of weakly electric fish to moving objects. *J Comp Physiol* 172, 115-128.
- Bosch, T.J. y Paul, D.H. (1993) Differential responses of single reticulospinal cells to spatially localized stimulation of the optic tectum in a teleost fish, *Salmo trutta*. *Eur J Neurosci* 5: 742-750.
- Brandt, H.M. y Apkarian, A.V. (1992) Biotin-dextran: a sensitive anterograde tracer for neuroanatomic studies in rat and monkey. *J Neurosci Methods* 45, 35-40.
- Busettini, C., Miles, F.A. y Krauzlis, R.J. (1996) Short-latency disparity vergence responses and their dependence on a prior saccadic eye movement. *J Neurophysiol* 75, 1392-1410.

- Büttner- Ennever, J.A., Horn, A.K.E., Henn, V. y Cohen, B. (1999) Projections from the superior colliculus motor map to omnipause neurons in monkey. *J Comp Neurol* 413, 55-67.
- Büttner-Ennever, J.A. y Büttner, U. (1978) A cell group associated with vertical eye movements in the rostral mesencephalic reticular formation of the monkey. *Brain Res* 151, 31-47.
- Büttner-Ennever, J.A. y Büttner, U. (1988) Neuroanatomy of the oculomotor system. The reticular formation. *Rev Oculomotor Res* 2, 119-176.
- Büttner-Ennever, J.A. y Horn, A.K. (1997) Anatomical substrates of oculomotor control. *Curr Opin Neurobiol* 7, 872-879.
- Büttner-Ennever, J.A., Horn, A.K., Graf, W. y Ugolini, G. (2002) Modern concepts of brainstem anatomy: from extraocular motoneurons to proprioceptive pathways. *Ann N Y Acad Sci* 956, 75-84.
- Cabrera, B. (1991) Morfología comparada del núcleo motor ocular externo principal en vertebrados. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- Cabrera, B., Torres, B., Pasaro, R., Pastor, A.M. y Delgado-Garcia, J.M. (1992) A morphological study of abducens nucleus motoneurons and internuclear neurons in the goldfish (*Carassius auratus*). *Brain Res Bull* 28: 137-144.
- Callens, M., Vandebussche, E. y Greenway, P. (1967) Convergence of retinal and lateral line stimulation on tectum opticum and cerebellar neurons. *Arch Int Physiol Biochem* 75, 148-150.
- Chen, B. y May, P.J. (2000) The feedback circuit connecting the superior colliculus and central mesencephalic reticular formation: a direct morphological demonstration. *Exp Brain Res* 131, 10-21.
- Cheron, G. y Godaux, E. (1987) Disabling of the oculomotor neural integrator by kainic acid injections in the prepositus-vestibular complex of the cat. *J Physiol* 394, 267-290.
- Cohen, B. y Büttner-Ennever, J.A. (1984) Projections from the superior colliculus to a region of the central mesencephalic reticular formation (cMRF) associated with horizontal saccadic eye movements. *Exp Brain Res* 57, 167-174.
- Cohen, B. y Komatsuzaki, A. (1972) Eye movements induced by stimulation of the pontine reticular formation: evidence for integration in oculomotor pathways. *Exp Neurol* 36, 101-117.

Cohen, B., Matsuo, V., Fradin, J. y Raphan, T. (1985) Horizontal saccades induced by stimulation of the central mesencephalic reticular formation. *Exp Brain Res* 57, 605-616.

Cohen, B., Waitzman, D.M., Büttner-Ennever, J.A. y Matsuo, V. (1986) Horizontal saccades and the central mesencephalic reticular formation. En *The oculomotor and skeletal-motor systems: differences and similarities* (H.J.Freund, U.Büttner, B. Cohen y J Noth, eds), 243-255, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.

Corvisier, J. y Hardy, O. (1991) Possible excitatory and inhibitory feedback to the superior colliculus: a combined retrograde and immunocytochemical study in the prepositus hypoglossi nucleus of the guinea pig. *Neurosci Res* 12, 486-502.

Cowie, R.J. y Holstege, G. (1992) Dorsal mesencephalic projections to the pons, medulla and spinal cord in the cat: limbic and non-limbic components. *J Comp Neurol* 319, 539-559.

Cromer, J.A., Pathmanathan, J.S., Dearborn, J.L. y Waitzman, D.M. (2004) The discharge of a subset of mesencephalic reticular formation neurons encodes eye velocity during visually guided and remembered saccades. *Soc Neurosci Abstr* 30: 880.8

Curtis, D.R., Duggan, A.W. y Johnston, G.A. (1970) The inactivation of extracellularly administered amino acids in the feline spinal cord. *Exp Brain Res* 10, 447-462.

Dacey, D.M. y Ulinski, P.S. (1986) Optic tectum of the eastern garter snake, *Thamnophis sirtalis*. V. Morphology of brainstem afferents and general discussion. *J Comp Neurol* 245, 423-453.

Dalezios, Y., Scudder, C.A., Highstein, S.M. y Moschovakis, A.K. (1998) Anatomy and physiology of the primate interstitial nucleus of Cajal. II. Discharge pattern of single efferent fibers. *J Neurophysiol* 80, 3100-3111.

Davila, J.C., Andreu, M.J., Real, M.A., Puellas, L. y Guirado, S. (2002) Mesencephalic and diencephalic afferent connections to the thalamic nucleus rotundus in the lizard, *Psammotromus algirus*. *Eur J Neurosci* 16, 267-282.

Davis, R.E. y Klinger, P.D. (1987) Spatial discrimination in goldfish following bilateral tectal ablation. *Behav Brain Res* 25, 255-260.

De La Cruz, R.R., Escudero, M. y Delgado-Garcia, J.M. (1989) Behaviour of medial rectus motoneurons in the alert cat. *Eur J Neurosci* 1, 288-295.

Dean, P., Redgrave, P. y Westby, G.W. (1989) Event or emergency? Two response systems in the mammalian superior colliculus. *Trends Neurosci* 12, 137-147.

- Dean, P., Redgrave, P., Sahibzada, N. y Tsuji, K. (1986) Head and body movements produced by electrical stimulation of superior colliculus in rats: effects of interruption of crossed tecto-reticulo-spinal pathway. *Neuroscience* 19, 367-380.
- Delgado-Garcia, J.M., del Pozo, F. y Baker, R. (1986) Behavior of neurons in the abducens nucleus of the alert cat--I. Motoneurons. *Neuroscience* 17, 929-952.
- Delgado-Garcia, J.M., Vidal, P.P., Gomez, C. y Berthoz, A. (1989) A neurophysiological study of prepositus hypoglossi neurons projecting to oculomotor and preculomotor nuclei in the alert cat. *Neuroscience* 29, 291-307.
- Demski, L.S. (1982) Eye movements and related behavioural responses evoked by electrical stimulation of the brain in free-swimming sunfish. *Brain Behav Evol* 20, 182-195.
- Demski, L.S. (1983) Behavioral effects of electrical stimulation of the brain. En: Davis, R.E., Northcutt, R.G. (eds) *Fish Neurobiology, Vol. 2. Higher Brain Areas and functions*. The University of Michigan Press, Ann Arbor, pp 317-359.
- Demski, L.S. y Bauer, D.H. (1975) Eye movements evoked by electrical stimulation of the brain in anesthetized fishes. *Brain Behav Evol* 11, 109-129.
- Dicke, U. (1999) Morphology, axonal projection pattern, and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. I: Tracer study of projection neurons and their pathways. *J Comp Neurol* 404, 473-488.
- Dicke, U. y Roth, G. (1996) Similarities and differences in the cytoarchitecture of the tectum of frogs and salamanders. *Act Biol Hung* 47, 41-59.
- Du Lac, S. y Knudsen, E.I. (1990) Neural maps of head movement vector and speed in the optic tectum of the barn owl. *J Neurophysiol* 63, 131-146.
- Easter, S.S. Jr. (1971) Spontaneous eye movements in restrained goldfish. *Vision Res* 11, 333-342.
- Ebbesson, S.O.E. y Vanegas, H. (1976) Projections of the optic tectum in two teleost species. *J Comp Neurol* 165, 161-180.
- Ewert, J.P. (1984) Tectal mechanisms that underlie prey-catching and avoidance behaviour in toads. En *Comparative neurology of the optic tectum* (ed. Vanegas, H.), pp 247-416. Plenum Press, Nueva York.
- Ewert, J.P., Buxbaum-Conradi, H., Dreisvogt, F., Glasgow, M., Merkel-Harff, C., Rottgen, A., Schurg-Pfeiffer, E. y Schwippert, W.W. (2001) Neural modulation of visuomotor functions underlying prey-catching behaviour in anurans: perception,

attention, motor performance, learning. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 128, 417-461.

Fetcho, J.R. y Svoboda, K.R. (1993) Fictive swimming elicited by electrical stimulation of the midbrain in goldfish. *J Neurophysiol* 70, 765-780.

Fiebig, E., Ebbesson, S.O. y Meyer, D.L. (1983) Afferent connections of the optic tectum in the piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Cell Tissue Res* 231, 55-72.

Freedman, E.G., Stanford, T.R. y Sparks, D.L. (1996) Combined eye-head gaze shifts produced by electrical stimulation of the superior colliculus in rhesus monkeys. *J Neurophysiol* 76, 927-952.

Fuchs, A.F. (1967) Saccadic and smooth pursuit eye movements in the monkey. *J Physiol* 191, 609-631.

Fuchs, A.F., Kaneko, C.R. y Scudder, C.A. (1985) Brainstem control of saccadic eye movements. *Annu Rev Neurosci* 8, 307-337.

Fuchs, A.F., Scudder, C.A. y Kaneko, C.R. (1988) Discharge patterns and recruitment order of identified motoneurons and internuclear neurons in the monkey abducens nucleus. *J Neurophysiol* 60, 1874-1895.

Fukushima, K. (1987) The interstitial nucleus of Cajal and its role in the control of movements of head and eyes. *Prog Neurobiol* 29, 107-192.

Fukushima, K., Kaneko, C.R. y Fuchs, A.F. (1992) The neuronal substrate of integration in the oculomotor system. *Prog Neurobiol* 39, 609-639.

Gerlach, I. y Thier, P. (1995) Brainstem afferents to the lateral mesencephalic tegmental region of the cat. *J Comp Neurol* 358, 219-232.

Gestring, P. y Sterling, P. (1977) Anatomy and physiology of goldfish oculomotor system. II. Firing patterns of neurons in abducens nucleus and surrounding medulla and their relation to eye movements. *J Neurophysiol* 40, 573-588.

Glimcher, P.W. (2003a) Eye movements. En *Fundamental Neuroscience* (eds. Squire, L.R., Bloom, F.E., McConnell, S.K., Roberts, J.L., Spitzer, N.C. y Zigmond, M.J.) pp 873-893. Academic Press / Elsevier, San Diego.

Glimcher, P.W. (2003b) The neurobiology of visual-saccadic decision making. *Annu Rev Neurosci* 26: 133-179.

Goebel, H.H., Komatsuzaki, A., Bender, M.B. y Cohen, B. (1971) Lesions of the pontine tegmentum and conjugate gaze paralysis. *Arch Neurol* 24, 431-440.

- Graf, W., Spencer, R., Baker, H. y Baker, R. (1997) Excitatory and inhibitory vestibular pathways to the extraocular motor nuclei in goldfish. *J Neurophysiol* 77, 2765-2779.
- Graham, J. (1977) An autoradiographic study of the efferent connections of the superior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 173, 629-654.
- Grantyn, A. y Grantyn, R. (1982) Axonal patterns and sites of termination of cat superior colliculus neurons projecting in the tecto-bulbo-spinal tract. *Exp Brain Res* 46, 243-256.
- Grantyn, A.A., Dalezios, Y., Kitama, T. y Moschovakis, A.K. (1997) An anatomical basis for the spatio-temporal transformation in the saccadic system. *Soc Neurosci Abstr* 23, 1295.
- Grantyn, R., Jüttner, R. y Meier, J. (2004) Development and use-dependent modification of synaptic connections in the visual layers of the rodent superior colliculus. En *The superior colliculus. New approaches for studying sensorimotor integration* (eds. Hall, C.W. y Moschovakis, A.) pp 173-210. CRC Press, Florida.
- Grobstein, P. (1988) Between the retinotectal projection and directed movement: topography of a sensorimotor interface. *Brain Behav Evol* 31, 34-48.
- Grover, B.G. y Sharma, S.C. (1979) Tectal projections in the goldfish (*Carassius auratus*): a degeneration study. *J Comp Neurol* 184, 435-453.
- Grover, B.G. y Sharma, S.C. (1981) Organization of extrinsic tectal connections in goldfish (*Carassius auratus*). *J Comp Neurol* 196, 471-488.
- Guitton, D. (1992) Control of eye-head coordination during orienting gaze shifts. *Trends Neurosci* 15, 174-179.
- Guitton, D., Bergeron, A., Choi, W.Y. y Matsuo, S. (2003) On the feedback control of orienting gaze shifts made with eye and head movements. *Prog Brain Res* 142, 55-68.
- Guitton, D., Crommelinck, M. y Roucoux, A. (1980) Stimulation of the superior colliculus in the alert cat. I. Eye movements and neck EMG activity evoked when the head is restrained. *Exp Brain Res* 39, 63-73.
- Hall, W.C. y Moschovakis, A. (2004) *The superior colliculus. New approaches for studying sensorimotor integration.* CRC Press, Florida.
- Handel, A. y Glimcher, P.W. (1997) Response properties of saccade-related burst neurons in the central mesencephalic reticular formation. *J Neurophysiol* 78, 2164-2175.

- Hanes, D.P. y Wurtz, R.H. (2001) Interaction of the frontal eye field and superior colliculus for saccade generation. *J Neurophysiol* 85, 804-815.
- Harting, J.K. (1977) Descending pathways from the superior colliculus: an autoradiographic analysis in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol* 173, 583-612.
- Hartline, P.H. (1984) The optic tectum of reptiles: neurophysiological studies. En: *Comparative neurology of the optic tectum* (ed. H. Vanegas), pp 601-618. Plenum Press, Nueva York.
- Herrero, L. (1997) Codificación tectal de los movimientos oculares y de la aleta caudal en el carpín dorado (*Carassius auratus*): un estudio morfo-funcional. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- Herrero, L., Corvisier, J., Hardy, O. y Torres, B. (1998a) Influence of the tectal zone on the distribution of synaptic boutons in the brainstem of goldfish. *J Comp Neurol* 401, 411-428.
- Herrero, L., Pérez, P., Nunez Abades, P., Hardy, O. y Torres, B. (1999) Tectotectal connectivity in goldfish. *J Comp Neurol* 411, 455-471.
- Herrero, L., Rodriguez, F., Salas, C. y Torres, B. (1998b) Tail and eye movements evoked by electrical microstimulation of the optic tectum in goldfish. *Exp Brain Res* 120, 291-305.
- Hopp, J.J. y Fuchs, A.F. (2004) The characteristics and neuronal substrate of saccadic eye movement plasticity. *Prog Neurobiol* 72, 27-53.
- Hunt, S.P. y Brecha, N. (1984) The avian optic tectum: a synthesis of morphology and biochemistry. En *Comparative neurology of the optic tectum* (ed. Vanegas, H.), pp 619-648. Plenum Press, Nueva York.
- Hyde, P.S. y Knudsen, E.I. (2000) Topographic projection from the optic tectum to the auditory space map in the inferior colliculus of the barn owl. *J Comp Neurol* 421, 146-160.
- Hyde, P.S. y Knudsen, E.I. (2002) The optic tectum controls visually guided adaptive plasticity in the owl's auditory space map. *Nature* 415, 73-76.
- Isa, T. y Sasaki, S. (2002) Brainstem control of head movements during orienting; organization of the premotor circuits. *Prog Neurobiol* 66, 205-241.
- Ito, H., Murakami, T., Fukuoka, T. y Kishida, R. (1986) Thalamic fiber connections in a teleost (*Sebastiscus marmoratus*): visual somatosensory, octavolateral, and cerebellar relay region to the telencephalon. *J Comp Neurol* 250: 215-227.

Jacobson, M. y Gaze, R.M. (1964) Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 49, 199-209.

Jay, M.F. y Sparks, D.L. (1984) Auditory receptive fields in primate superior colliculus shift with changes in eye position. *Nature* 309: 345-347.

Jiang, Z.D., Moore, D.R. y King, A.J. (1997) Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the ferret. *Brain Res* 755, 279-292.

Jimenez Moya, F. (2002) Áreas motoras del telencéfalo de los peces teleósteos: Cartografía mediante microestimulación eléctrica y delimitación citoarquitectónica. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.

Jurgens, R., Becker, W. y Kornhuber, H.H. (1981) Natural and drug-induced variations of velocity and duration of human saccadic eye movements: evidence for a control of the neural pulse generator by local feedback. *Biol Cybern* 39, 87-96.

Keng, M.J. y Anastasio, T.J. (1997) The horizontal optokinetic response of the goldfish. *Brain Behav Evol* 49, 214-229.

King, W.M. y Fuchs, A.F. (1979) Reticular control of vertical saccadic eye movements by mesencephalic burst neurons. *J Neurophysiol* 42, 861-876.

King, W.M. y Schmidt, J.T. (1993) Nucleus isthmi in goldfish: in vitro recordings and fiber connections revealed by HRP injections. *Vis Neurosci* 10, 419-437.

King, W.M. y Zhou, W. (2002) Neural basis of disjunctive eye movements. *Ann N Y Acad Sci* 956, 273-283.

Knudsen, E.I. y Brainard, M.S. (1995) Creating a unified representation of visual and auditory space in the brain. *Annu Rev Neurosci* 18, 19-43.

Kostyk, S.K. y Grobstein, P. (1987) Neuronal organization underlying visually elicited prey orienting in the frog--I. Effects of various unilateral lesions. *Neuroscience* 21, 41-55.

Kunzle, H. (1997) Connections of the superior colliculus with the tegmentum and the cerebellum in the hedgehog tenrec. *Neurosci Res* 28, 127-145.

Land, M.F. (1999) Motion and vision: why animals move their eyes. *J Comp Physiol* 185, 341-352.

Landwehr, S.L.G. y Dicke, U. (2004) Modulatory systems of the tectum mesencephali in *Plethodon shermani*. Abstract del 4ª European conference on comparative neurobiology, p 58.

- Langer, T.P. y Kaneko, C.R. (1984) Brainstem afferents to the omnipause region in the cat: a horseradish peroxidase study. *J Comp Neurol* 230, 444-458.
- Langer, T.P. y Kaneko, C.R. (1990) Brainstem afferents to the oculomotor omnipause neurons in monkey. *J Comp Neurol* 295, 413-427.
- Luiten, P.G.M. (1981) Afferent and efferent connections of the optic tectum in the carp (*Cyprinus carpio* L.) *Brain Res* 220, 51-65.
- Luque, M.A., Pérez-Pérez, M.P., Herrero, L. y Torres, B. (2005) Involvement of the optic tectum and mesencephalic reticular formation in the generation of saccadic eye movements in goldfish. *Brain Res Rev* (en prensa, disponible on line).
- Marin, O. y Gonzalez, A. (1999) Origin of tectal cholinergic projections in amphibians: a combined study of choline acetyltransferase immunohistochemistry and retrograde transport of dextran amines. *Vis Neurosci* 16, 271-283.
- Marsh, E. y Baker, R. (1997) Normal and adapted visuoculomotor reflexes in goldfish. *J Neurophysiol* 77, 1099-1118.
- Masino, T. (1992) Brainstem control of orienting movements: intrinsic coordinate systems and underlying circuitry. *Brain Behav Evol* 40, 98-111.
- Masino, T. y Grobstein, P. (1989) The organization of descending tectofugal pathways underlying orienting in the frog, *Rana pipiens*. II. Evidence for the involvement of a tecto-tegmento-spinal pathway. *Exp Brain Res* 75, 245-264.
- Masino, T. y Grobstein, P. (1990) Tectal connectivity in the frog *Rana pipiens*: tectotegmental projections and a general analysis of topographic organization. *J Comp Neurol* 291, 103-127.
- Masino, T. y Knudsen, E.I. (1990) Horizontal and vertical components of head movement are controlled by distinct neural circuits in the barn owl. *Nature* 345, 434-437.
- Masino, T. y Knudsen, E.I. (1992) Anatomical pathways from the optic tectum to the spinal cord subserving orienting movements in the barn owl. *Exp Brain Res* 92, 194-208.
- Masino, T. y Knudsen, E.I. (1993) Orienting head movements resulting from electrical microstimulation of the brainstem tegmentum in the barn owl. *J Neurosci* 13, 351-370.
- May, P.J. y Porter, J.D. (1992) The laminar distribution of macaque tectobulbar and tectospinal neurons. *Vis Neurosci* 8, 257-276.

- May, P.J., Warren, S., Chen, B., Richmond, F.J.R. y Olivier, E. (2002) Midbrain reticular formation circuitry subserving gaze in the cat. *Ann NY Acad Sci* 56, 405-408.
- Mcllwain, J.T. (1990) Topography of eye-position sensitivity of saccades evoked electrically from the cat's superior colliculus. *Vis Neurosci* 4, 289-298.
- Mcllwain, J.T. (1988) Effects of eye position on electrically evoked saccades: a theoretical note. *Vis Neurosci* 1, 239-244.
- Meek, J. y Nieuwenhuys, R. (1998) Holosteans and teleosts. En *The central nervous system of vertebrates*. (eds. Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H.J. y Nicholson, C.) pp 759-937. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlín.
- Meek, J. y Schellart, N.A. (1978) A Golgi study of goldfish optic tectum. *J Comp Neurol* 182, 89-122.
- Mensh, B.D., Aksay, E., Lee, D.D., Seung, H.S. y Tank, D.W. (2004) Spontaneous eye movements in goldfish: oculomotor integrator performance, plasticity, and dependence on visual feedback. *Vision Res* 44, 711-726.
- Meyer, D.L., Schott, D. y Schaefer, K.P. (1970) Stimulation experiment in the optic tectum of freely swimming cods (*Gadus morrhua* L.). An experimental contribution to the sensorimotor coordination of the brain stem. *Pflugers Arch* 314, 240-252.
- Mori, S. (1993) Localization of extratectally evoked visual response in the corpus and valvula cerebelli in carp, and cerebellar contribution to 'dorsal light reaction' behavior. *Behav Brain Res* 59, 33-40.
- Moschovakis, A.K. y Highstein, S.M. (1994) The anatomy and physiology of primate neurons that control rapid eye movements. *Annu Rev Neurosci* 17, 465-488.
- Moschovakis, A.K., Karabelas, A.B. y Highstein, S.M. (1988) Structure-function relationships in the primate superior colliculus. II. Morphological identity of presaccadic neurons. *J Neurophysiol* 60, 263-302.
- Moschovakis, A.K., Kitama, T., Dalezios, Y., Petit, J., Brandi, A.M. y Grantyn, A.A. (1998) An anatomical substrate for the spatiotemporal transformation. *J Neurosci* 18, 10219-10229.
- Moschovakis, A.K., Scudder, C.A. y Highstein, S.M. (1991a) Structure of the primate oculomotor generator. I. Medium-lead burst neurons with upward on-directions. *J Neurophysiol* 65, 203-217.

- Moschovakis, A.K., Scudder, C.A. y Highstein, S.M. (1996) The microscopic anatomy and physiology of the mammalian saccadic system. *Prog Neurobiol* 50, 133-254.
- Moschovakis, A.K., Scudder, C.A., Highstein, S.M. y Warren, J.D. (1991b) Structure of the primate oculomotor generator. II. Medium-lead burst neurons with downward on-directions. *J Neurophysiol* 65, 218-229.
- Munoz, D.P. y Schall, J.D. (2004) Concurrent, distributed control of saccade initiation in the frontal eye field and superior colliculus. En *The superior colliculus. New approaches for studying sensorimotor integration* (eds. Hall, W.C y Moschovakis, A.), pp 55-82. CRC Press, Florida.
- Murakami, T., Morita, Y. y Ito, H. (1986) Cytoarchitecture and fiber connections of the superficial pretectum in a teleost, *Navodon modestus*. *Brain Res* 373, 213-221.
- Niida, A. y Ohono, T. (1984) An extensive projection of fish dorsolateral tegmental cells to the optic tectum revealed by intra-axonal dye marking. *Neurosci Lett* 48, 261-266.
- Niida, A., Ohono, T. y Iwata, K.S. (1989) Efferent tectal cells of crucian carp: physiology and morphology. *Brain Res Bull* 22, 389-398.
- Northcutt, R.G. (1984) Anatomical organization of the optic tectum in reptiles. En: *Comparative neurology of the optic tectum* (ed. Vanegas, H.), pp 547-600. Plenum Press, Nueva York.
- Northmore, D.P.M., Levine, E.S. y Scheneider, G.E. (1988) Behavior evoked by electrical stimulation of the hamster superior colliculus. *Exp Brain Res* 73, 595-605.
- Nudo, R.J. y Masterton, R.B. (1989) Descending pathways to the spinal cord: II. Quantitative study of the tectospinal tract in 23 mammals. *J Comp Neurol* 286, 96-119.
- O'Benar, J.D. (1976) Electrophysiology of neural units in goldfish optic tectum. *Brain Res Bull* 1, 529-541.
- Olivier, E., Kitama, T. y Grantyn, A. (1994) Anatomical evidence for ipsilateral collicular projections to the spinal cord in the cat. *Exp Brain Res* 100, 160-164.
- Paré, M., Crommelinck, M. y Guitton, D. (1994) Gaze shifts evoked by stimulation of the superior colliculus in the head-free cat conform to the motor map but also depend on stimulus strength and fixation activity. *Exp Brain Res* 101, 123-139.

- Pastor, A.M., de la Cruz, R.R. y Baker, R. (1992) Characterization and adaptive modification of the goldfish vestibuloocular reflex by sinusoidal and velocity step vestibular stimulation. *J Neurophysiol* 68, 2003-2015.
- Pastor, A.M., De la Cruz, R.R. y Baker, R. (1994) Eye position and eye velocity integrators reside in separate brainstem nuclei. *Proc Natl Acad Sci* 91, 807-811.
- Pastor, A.M., Torres, B., Delgado-Garcia, J.M. y Baker, R. (1991) Discharge characteristics of medial rectus and abducens motoneurons in the goldfish. *J Neurophysiol* 66, 2125-2140.
- Pathmanathan, J.S. y Waitzman, D.M. (2003) Functions of pre-saccadic central mesencephalic reticular formation (cMRF) neurons in spatial to temporal transformation. *Soc Neurosci Abstr* 29, 79.18.
- Pérez- Pérez, M.P., Herrero, L. y Torres, B. (2000) Connectivity of the tectal zones coding for upward and downward oblique eye movements in goldfish. *J Comp Neurol* 427, 405-416.
- Pérez-Pérez, M.P. (2001) Estudio de la conectividad de diferentes sitios funcionales del techo óptico en el carpín dorado (*Carassius auratus*). Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- Pérez-Pérez, M.P., Luque, M.A., Herrero, L., Nunez-Abades, P.A. y Torres, B. (2003a) Afferent connectivity to different functional zones of the optic tectum in goldfish. *Vis Neurosci* 20, 397-410.
- Pérez-Pérez, M.P., Luque, M.A., Herrero, L., Nunez-Abades, P.A. y Torres, B. (2003b) Connectivity of the goldfish optic tectum with the mesencephalic and rhombencephalic reticular formation. *Exp Brain Res* 151, 123-135.
- Prasada Rao, P.D., Jadhao, A.G. y Sharma, S.C. (1987) Descending projection neurons to the spinal cord of the goldfish, *Carassius auratus*. *J Comp Neurol* 265: 96-108.
- Raphan, T. y Cohen, B. (2002) The vestibulo-ocular reflex in three dimensions. *Exp Brain Res* 145, 1-27.
- Redgrave, P., Mitchell, I.J. y Dean, P. (1987) Further evidence for segregated output channels from superior colliculus in rat: ipsilateral tecto-pontine and tecto-cuneiform projections have different cells of origin. *Brain Res* 413, 170-174.
- Redgrave, P., Mitchell, I.J. y Dean, P. (1988) Descending projections from the superior colliculus in rat: a study using orthograde transport of wheatgerm-agglutinin conjugated horseradish peroxidase. *Exp Brain Res* 68, 147-167.

Redgrave, P., Odekunle, A. y Dean, P. (1986) Tectal cells of origin of predorsal bundle in rat: location and segregation from ipsilateral descending pathway. *Exp Brain Res* 63, 279-293.

Reiner, A. (1994) Laminar distribution of the cells of origin of ascending and descending tectofugal pathways in turtles: implications for the evolution of tectal lamination. *Brain Behav Evol* 43, 254-292.

Reiner, A. y Karten, H.J. (1982) Laminar distribution of the cells of origin of the descending tectofugal pathways in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 204, 165-187.

Robinson, D.A. (1963) A method of measuring eye movement using a scleral search coil in a magnetic field. *IEEE Trans Biomed Eng.* 10, 137-145.

Robinson, D.A. (1972) Eye movements evoked by collicular stimulation in the alert monkey. *Vision Res.* 12, 1795-1808.

Robinson, D.A. (1975) Oculomotor control signals. In: Bach-y-Rita, P., Lennerstrand, G. (eds) *Basic mechanisms of ocular motility and their clinical implications*. Pergamon Press, Oxford, pp 337-374.

Roche King, J. y Comer, C.M. (1996) Visually elicited turning behavior in *Rana pipiens*: Comparative organization and neural control of escape and prey capture. *J Comp Neurol* 178, 293-305.

Rodríguez, F. (1996) Mecanismos tectales implicados en la orientación espacial en el carpín dorado (*Carassius auratus*): un estudio mediante técnicas de lesión y de microestimulación eléctrica localizada. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.

Roeser, T. y Baier, H. (2003) Visuomotor behaviors in larval zebrafish after GFP-guided laser ablation of the optic tectum. *J Neurosci* 23, 3726-3734.

Roucoux, A., Guitton, D. y Crommelinck, M. (1980) Stimulation of the superior colliculus in the alert cat. II. Eye and head movements evoked when the head is unrestrained. *Exp Brain Res* 39, 75-85.

Salas, C., Herrero, L., Rodríguez, F. y Torres, B. (1994) On the role of goldfish optic tectum in the generation of eye movements. En *Information Processing underlying gaze control* (eds. Delgado-García, J.M., Godaux, E. y Vidal, P.P.), pp 87-95. Pergamon, Oxford.

Salas, C., Herrero, L., Rodríguez, F. y Torres, B. (1997) Tectal codification of eye movements in goldfish studied by electrical microstimulation. *Neurosci* 78, 271-288.

- Salas, C., Navarro, F., Torres, B., Delgado-Garcia, J.M. (1992) Effects of diazepam and D-amphetamine on rhythmic pattern of eye movements in goldfish. *Neuroreport* 3, 131-134.
- Salas, C., Torres, B. y Rodríguez, F. (1999) A method for measuring eye movements using Hall-effect devices. *Behav Res Methods Instrum Comput* 31, 353-358.
- Schiller, P.H. y Stryker, M. (1972) Single-unit recording and stimulation in superior colliculus of the alert rhesus monkey. *J Neurophysiol* 35, 915-924.
- Schlussman, S.D., Kobylack, M.A., Dunn-Meynell, A.A. y Sharma, S.C. (1990) Afferent connections of the optic tectum in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Cell Tissue Res* 262, 531-541.
- Schwassmann, H.O. (1968) Visual projection upon the optic tectum in foveate marine teleosts. *Vision Res* 8, 1337-1348.
- Schwassmann, H.O. y Kruger, L. (1965) Organization of the visual projections upon the optic tectum of some freshwater fish. *J Comp Neurol* 124, 113-126.
- Scudder, C.A., Kaneko, C.S. y Fuchs, A.F. (2002) The brainstem burst generator for saccadic eye movements. A modern synthesis. *Exp Brain Res* 142, 439-462.
- Scudder, C.A., Moschovakis, A.K., Karabelas, A.B. y Highstein, S.M. (1996b) Anatomy and physiology of saccadic long-lead burst neurons recorded in the alert squirrel monkey. II. Pontine neurons. *J Neurophysiol* 76, 353-370.
- Scudder, C.A., Moschovakis, A.K., Karabelas, A.B. y Highstein, S.M. (1996a) Anatomy and physiology of saccadic long-lead burst neurons recorded in the alert squirrel monkey. I. Descending projections from the mesencephalon. *J Neurophysiol* 76, 332-352.
- Seely, R.R., Stephens, T.D. y Tate, P. (1998) *Anatomy & Physiology*. WCB/McGrawHill, Boston.
- Sereno, M.I. (1985) Tectoreticular pathways in the turtle, *Pseudemys scripta*. I. Morphology of tectoreticular axons. *J Comp Neurol* 233, 48-90.
- Sereno, M.I. y Ulinski, P.S. (1985) Tectoreticular pathways in the turtle, *Pseudemys scripta*. II. Morphology of tectoreticular cells. *J Comp Neurol* 233, 91-114.
- Soetedjo, R., Kaneko, C.S. y Fuchs, A.F. (2002) Evidence that the superior colliculus participates in the feedback control of the saccadic eye movements. *J Neurophysiol* 87, 679-695.

- Sparks, D.L. (2002) The brainstem control of saccadic eye movements. *Nat Rev Neurosci* 3, 952-964.
- Sparks, D.L. y Gandhi, N.J. (2003) Single cell signals: an oculomotor perspective. *Prog Brain Res* 142, 35-53.
- Sparks, D.L. y Hartwich-Young, R. (1989) The deep layers of the superior colliculus. En *The neurobiology of saccadic eye movements*. (eds. Wurtz, R.H. y Goldberg, M.F.), pp 213-255. Elsevier, Amsterdam.
- Sparks, D.L. y Jay, M.F. (1986) The functional organization of the primate superior colliculus: a motor perspective. *Prog Brain Res* 64, 235-241.
- Sparks, D.L. y Mays, L.E. (1980) Movement fields of saccade-related burst neurons in the monkey superior colliculus. *Brain Res* 190, 39-50.
- Sparks, D.L. y Mays, L.E. (1990) Signal transformation required for the generation of saccadic eye movements. *Annu Rev Neurosci* 13, 309-336.
- Sparks, D.L. y Nelson, J.S. (1987) Sensory and motor maps in the mammalian superior colliculus. *Trends Neurosci* 10, 312-317.
- Springer, A.D., Easter, S.S. Jr. y Agranoff, B.W. (1977) The role of the optic tectum in various visually mediated behaviors of goldfish. *Brain Res* 128, 393-404.
- Stanford, T.R., Freedman, E.G. y Sparks, D.L. (1996) Site and parameters of microstimulation: evidence for independent effects on the properties of saccades evoked from the primate superior colliculus. *J Neurophysiol* 76, 3360-3381.
- Stein, B.E. (1998) Neural mechanisms for synthesizing sensory information and producing adaptive behaviors. *Exp Brain Res* 123, 124-135.
- Stein, B.E. y Gaither, N.S. (1981) Sensory representation in reptilian optic tectum: some comparisons with mammals. *J Comp Neurol* 202, 69-87.
- Striedter, G.F. (1990) The diencephalon of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. II. Retinal, tectal, cerebellar and telencephalic connections. *Brain Behav Evol* 36, 355-377.
- Tehovnik, E.J. (1996) Electrical stimulation of neural tissue to evoke behavioral responses. *J Neurosci Methods* 65, 1-17.
- Timerick, S.J., Roberts, B.L. y Paul, D.H. (1992) Brainstem neurons projecting to different levels of the spinal cord of the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Brain Behav Evol* 39, 93-100.

Torres, B., Fernandez, S., Rodriguez, F. y Salas, C. (1995) Distribution of neurons projecting to the trochlear nucleus in goldfish (*Carassius auratus*). *Brain Behav Evol* 45, 272-285.

Torres, B., Luque, M.A., Pérez-Pérez, M.P. y Herrero, L. (2005) Visual orienting response in goldfish: a multidisciplinary study. *Brain Res Bull* (en prensa, disponible on line).

Torres, B., Pastor, A.M., Cabrera, B., Salas, C. y Delgado-Garcia, J.M. (1992) Afferents to the oculomotor nucleus in the goldfish (*Carassius auratus*) as revealed by retrograde labeling with horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 324, 449-461.

Torres, B., Pérez-Pérez, M.P., Herrero, L., Ligeró, M. y Nuñez-Abades, P.A. (2002) Neural substrata underlying tectal eye movement codification in goldfish. *Brain Res Bull* 57, 345-348.

Uematsu, K. y Todo, T. (1997) Identification of the midbrain locomotor nuclei and their descending pathways in the teleost carp, *Cyprinus carpio*. *Brain Res* 773, 1-7.

Van Gisbergen, J.A., Robinson, D.A. y Gielen, S. (1981) A quantitative analysis of generation of saccadic eye movements by burst neurons. *J Neurophysiol* 45, 417-442.

Veenman, C.L., Reiner, A. y Honig, M.G. (1992) Biotinylated dextran amine as an anterograde tracer for single- and double-labeling studies. *J Neurosci Methods* 41, 239-254.

Vidal, P.P., May, P.J. y Baker, R. (1988) Synaptic organization of the tectal-facial pathways in the cat. I. Synaptic potential following collicular stimulation. *J Neurophysiol* 60, 769-797.

Voogd, J., Nieuwenhuys, R. y Van Dongen, P.A.M. (1998) Mammals. En *The central nervous system of vertebrates* (eds. Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H.J. y Nicholson, C.) pp 1637-2098. Springer-Verlag Berlín Heidelberg, Berlín.

Waitzman, D.M, Silakov, V.L. y Cohen, B. (1996) Central mesencephalic reticular formation (cMRF) neurons discharging before and during eye movements. *J Neurophysiol* 75, 1546-1572.

Waitzman, D.M., Ma, T.P., Optican, L.M. y Wurtz, R.H. (1991) Superior colliculus neurons mediate the dynamic characteristics of saccades. *J Neurophysiol* 66, 1716-1737.

- Waitzman, D.M., Pathmanathan, J., Presnell, R., Ayers, A. y De Palma, S. (2002) Contribution of the superior colliculus and the mesencephalic reticular formation to gaze control. *Ann N Y Acad Sci* 956, 111-129.
- Waitzman, D.M., Silakov, V.L., De Palma-Bowles, S. y Ayers, A.S. (2000a) Effects of reversible inactivation of the primate mesencephalic reticular formation. I. Hypermetric goal-directed saccades. *J Neurophysiol* 83, 2260- 2284.
- Waitzman, D.M., Silakov, V.L., De Palma-Bowles, S. y Ayers, A.S. (2000b) Effects of reversible inactivation of the primate mesencephalic reticular formation. II. Hypometric vertical saccades. *J Neurophysiol* 83, 2285-2299.
- Wallace, M.T. y Stein, B.E. (1996) Sensory organization of the superior colliculus in cat and monkey. *Prog Brain Res* 112, 301-311.
- Wallace, M.T. y Stein, B.E. (1997) Development of multisensory neurons and multisensory integration in cat superior colliculus. *J Neurosci* 17, 2429-2444.
- Walls, G.L. (1962) The evolutionary history of eye movements. *Vision Res* 2, 69-80.
- Wullimann, M.F. y Northcutt, R.G. (1990) Visual and electrosensory circuits of the diencephalon in mormyrids: an evolutionary perspective. *J Comp Neurol* 297, 537-552.
- Yager, D., Sharma, S.C. y Grover, B.G. (1977) Visual function in goldfish with unilateral and bilateral tectal ablation. *Brain Res* 137, 267-275.
- Yeomans, J.S. (1990) "Temporal summation decay" in hypothalamic self-stimulation: threshold changes at long intrapair intervals due to axonal subnormal periods. *Behav Neurosci* 104, 991-999.
- Yuan, W. y Semmlow, J.L. (2000) The influence of repetitive eye movements on vergence performance. 40, 3089-3098.
- Zhou, W. y King, W.M. (1998) Premotor commands encode monocular eye movements. *Nature* 393, 692-695.
- Zompa, I.C. y Dubuc, R. (1996) A mesencephalic relay for visual inputs to reticulospinal neurones in lampreys. *Brain Res* 718, 221-227.
- Zompa, I.C. y Dubuc, R. (1998a) Diencephalic and mesencephalic projections to rhombencephalic reticular nuclei in lampreys. *Brain Res* 802, 27-54.
- Zompa, I.C. y Dubuc, R. (1998b) Electrophysiological and neuropharmacological study of tectoreticular pathways in lampreys. *Brain Res* 804, 238-252.