

## Actividad de neuronas vestibulares premotoras en el gato despierto\*

M. Escudero\*\* y R. R. de la Cruz

Laboratorio de Neurociencia  
Dpto. de Fisiología y Biología Animal  
Facultad de Biología  
41012 Sevilla (España)

(Recibido el 16 de enero de 1989)

M. ESCUDERO and R. R. DE LA CRUZ. *Activity of Premotor Vestibular Neurons in the Alert Cat*. Rev. esp. Fisiol., 45 (2), 171-178, 1989.

The activity of medial vestibular nucleus neurons projecting to the contralateral abducens nucleus (premotor vestibular neurons) has been recorded during spontaneous and vestibular induced eye movements in the alert cat. Recorded neurons were identified by their antidromic activation from the abducens nucleus and by the post-synaptic field potential induced in this nucleus. The activity of identified medial vestibular neurons increased significantly with horizontal eye position and velocity toward the contralateral side, and decreased abruptly during ipsilateral saccades. The activity of these neurons was also related to head velocity toward the ipsilateral side. The functional role and origin of eye position and velocity signals present in these vestibular neurons are discussed.

**Key words:** Medial vestibular nucleus, Spike-triggered averaging, Abducens nucleus, Eye movements, Oculomotor system.

La función del reflejo vestibulo-ocular es corregir el desfase posicional del globo ocular inducido por movimientos de la cabeza mediante la producción de movimientos compensatorios de los ojos. LORENTE DE NÓ (17) describió la organización neuronal de este reflejo como un circuito en el que intervienen tres neuronas. La neurona de primer orden conecta con los receptores de los canales semicirculares

y termina en el núcleo vestibular; la neurona de segundo orden tiene su soma en el núcleo vestibular y proyecta a los núcleos oculomotores, donde se encuentra la motoneurona, última neurona del arco reflejo.

Las proyecciones de las neuronas vestibulares de segundo orden sobre el núcleo del motor ocular externo (MOE) se organizan según una doble vía, excitadora desde el núcleo vestibular medial contralateral e inhibidora desde el homolateral (2, 9, 20). LORENTE DE NÓ (17) sugirió que la neurona vestibular de segundo orden es un mero transmisor de la señal de

\* Trabajo realizado con ayudas de la C.I.C.Y.T., F.I.S. de la S.S. y Comité Conjunto Hispano-Norteamericano.

\*\* A quien debe dirigirse la correspondencia.

rotación de la cabeza, desde el laberinto hacia las motoneuronas. Recientemente se ha comprobado que, junto a neuronas vestibulares de segundo orden que sólo poseen señal de velocidad de la cabeza, existen otras con una señal adicional de posición y/o velocidad ocular (1, 3, 12, 19, 22). Se desconoce aún qué tipos neuronales proyectan monosinápticamente sobre los núcleos motores oculares.

El objetivo del presente trabajo fue la caracterización precisa del patrón de disparo de las neuronas vestibulares que proyectan al núcleo del MOE (neuronas vestibulares premotoras, en adelante), durante movimientos espontáneos e inducidos por estimulación vestibular. Se analizó la presencia de señales de posición y velocidad ocular, así como de velocidad de la cabeza, en la actividad de las neuronas vestibulares premotoras. También se comparó su actividad con la de otras neuronas vestibulares que no proyectan al núcleo del MOE.

### Material y Métodos

Los experimentos se realizaron en 4 gatos adultos. Bajo anestesia general (pentobarbital sódico, 35 mg/kg, i.p.) se les implantaron dos electrodos crónicos (fig 1 A), uno bipolar, de estimulación, en el nervio del MOE derecho y otro monopolar, de estimulación y registro, en el núcleo del MOE derecho, en el lugar en que se indujo el máximo potencial antidrómico por la estimulación desde el primer electrodo. Se comprobó la correcta localización del primer electrodo mediante la producción del correspondiente movimiento de abducción del ojo homolateral. Los movimientos oculares se registraron mediante la técnica del seguidor electromagnético de la posición ocular (11), para lo cual se fijó mediante sutura una pequeña bobina (tres vueltas de acero inoxidable de 25  $\mu$ m de diámetro) a la esclerótica del ojo derecho, a 2 mm del iris. A cada animal se

implantó también un sistema de fijación de la cabeza para facilitar el registro extracelular de la actividad neuronal en el animal despierto. El acceso al núcleo vestibular medial izquierdo se realizó a través del cerebelo intacto, por un pequeño orificio abierto en el hueso occipital.

Las sesiones de registro comenzaron dos semanas después de la operación quirúrgica, realizándose en días alternos, con una duración de 3 a 5 horas por sesión. El animal se inmovilizó, procurando su máxima comodidad, sobre una mesa de registro giratoria, dotada de un dispositivo para medir su posición angular en el plano horizontal. Los registros unitarios se realizaron con micropipetas de vidrio llenas con ClNa 2M (2-5 M $\Omega$  de impedancia). La actividad de las neuronas, los movimientos oculares y la rotación de la mesa se grabaron en cinta magnética para su posterior análisis (5). Los potenciales de acción de las neuronas vestibulares registradas se utilizaron para sincronizar un promediador digital programable (fig. 1 B), con una resolución de 5  $\mu$ s en tiempo y de 0,2  $\mu$ V en voltaje. La actividad eléctrica registrada en el núcleo del MOE derecho se promedió, un mínimo de 5.000 veces, desde 3 ms antes, hasta 7 ms después del disparo de la neurona vestibular (9).

La información almacenada en cinta magnética se transfirió en bloques de 5 s a un ordenador IBM PC-XT, mediante un convertidor analógico-digital con un intervalo de muestreo de 0,2 ms. La relación entre la frecuencia de disparo de la neurona y la posición ocular se estudió como sigue. Un programa determinó la frecuencia media de disparo en períodos de 200 ms durante las fijaciones oculares; el análisis empezó 300 ms después de cada movimiento sacádico con el fin de evitar la posible caída exponencial en la actividad de la neurona (5, 19). Para las relaciones entre la frecuencia de disparo y la velocidad ocular, el programa representó la velocidad máxima del movimiento sa-

cádico frente a la frecuencia máxima de disparo de la neurona, previa substracción del componente de posición ocular (4, 14). La localización de los electrodos de registro y/o estimulación se comprobó histológicamente al final de los experimentos con la ayuda de lesiones electrolíticas (5).

### Resultados

*Identificación de las neuronas vestibulares premotoras.* — Para la localización del núcleo vestibular medial se tomaron como referencias las coordenadas estereotáxicas con respecto al núcleo del MOE (fig. 1 A) y el patrón de actividad de la población de neuronas registradas en respuesta a la rotación de la cabeza (actividad tipo I) (8). Las neuronas vestibulares pre-

motoras se identificaron siguiendo tres criterios: a) test de colisión durante la activación antidrómica desde el núcleo del MOE contralateral; b) modulación sinusoidal de la frecuencia de disparo en respuesta a la rotación del animal en el plano horizontal; y c) promedio del potencial postsináptico inducido en el núcleo del MOE (fig. 1 B). Un ejemplo del test de colisión para una neurona vestibular premotora se muestra en la fig. 1 C. La latencia antidrómica, medida al primer pico positivo, de las neuronas vestibulares premotoras ( $n = 10$ ) varió entre 0,3 y 0,55 ms. El potencial de campo postsináptico inducido en el núcleo del MOE contralateral por las neuronas vestibulares premotoras consistió en una deflexión inicial positiva-negativa-positiva seguida por una onda lenta negativa (fig. 1 D). La espiga

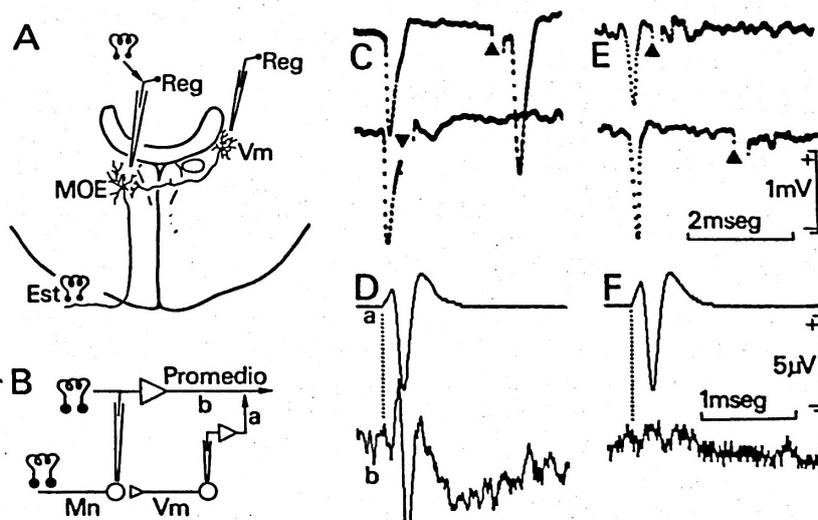


Fig. 1. *Diseño experimental.*

A) Sección del tronco del encéfalo del gato con los puntos de registro (Reg) y estimulación (Est). Vm, núcleo vestibular medial; MOE, núcleo del motor ocular externo. B) Esquema de la técnica de promedio disparado por una espiga. Mn, motoneurona del núcleo del motor ocular externo; (a), Vm es la neurona cuya actividad se utiliza como disparo para sincronizar el promedio en b (Mn). C) Test de colisión para la identificación de una neurona del núcleo vestibular medial. Los triángulos indican el inicio del artefacto del estímulo en el núcleo del MOE contralateral. D) Promedio del potencial de campo registrado en el núcleo del MOE disparado por la neurona vestibular mostrada en C. E) Neurona del núcleo vestibular medial no activada desde el núcleo del MOE, con el fallo consiguiente en el test de colisión. F) Igual que en D para la célula mostrada en E. Calibraciones: 1 mV y 2 ms para C y E, y 5  $\mu$ V y 1 ms para D y F.

trifásica inicial, dada su forma y latencia, se interpretó como la llegada del impulso nervioso al núcleo del MOE (9, 19). La siguiente onda negativa comenzó entre 0,3 y 0,6 ms después del inicio de la espiga trifásica (20) y se interpretó como el resultado de las corrientes postsinápticas despolarizadoras inducidas en el núcleo del MOE por la neurona vestibular que sincronizó el promedio (9). Las neuronas vestibulares no activadas antidrómicamente (fig. 1 E) no indujeron ningún potencial de campo postsináptico en el núcleo del MOE (fig. 1 F).

*Actividad de las neuronas vestibulares premotoras durante movimientos espontáneos.* — Estas neuronas modularon su actividad en función de la posición ocular, aumentando su frecuencia de disparo para posiciones hacia el lado contralateral (dirección *on*) y disminuyéndola para posi-

ciones homolaterales (dirección *off*). En la fig. 2 A se muestra una neurona localizada en el núcleo vestibular medial izquierdo cuya proyección al núcleo del MOE contralateral se demostró mediante la técnica del promedio de campo extracelular. Se observa en su patrón de disparo la presencia de señales de posición y velocidad ocular, en contraste con la neurona de la fig. 2 B, cuyo axón no terminó en el núcleo del MOE. De las relaciones entre frecuencia de disparo y posición ocular (fig. 3 A) se calcularon los coeficientes de sensibilidad a la posición ( $k$ , valor de la pendiente de la recta ajustada) de estas neuronas. La sensibilidad a la posición fue pequeña, variando entre 1,2 y 2,3 espigas/s/grado para las neuronas vestibulares premotoras (fig. 3 A) con una correlación siempre significativa (test de la F,  $p \leq 0,01$ ). Por el contrario, la correlación para las neuronas que no proyectaron al MOE fue en todos

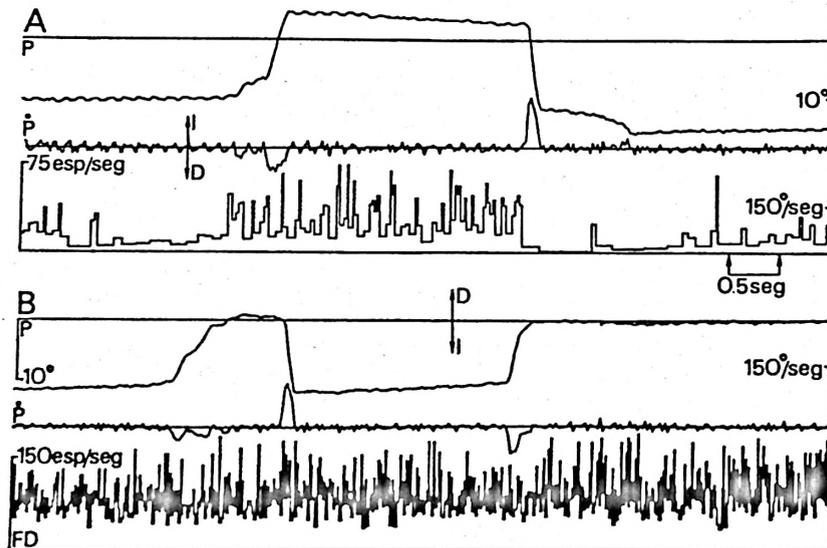


Fig. 2. Registro de dos neuronas del núcleo vestibular medial (lado izquierdo) durante movimientos espontáneos.

A) Registro de una neurona vestibular activada desde el núcleo del MOE contralateral y cuya proyección se comprobó mediante el promedio. B) Registro de una neurona vestibular no activada y sin efecto en el promedio. De arriba abajo se representan: la posición (P), en grados y la velocidad ( $\dot{P}$ ), en grados/s, del ojo derecho en el plano horizontal y la frecuencia de disparo instantánea de la neurona en espigas/s (FD). I, izquierda; D, derecha. Se indican las calibraciones en cada caso.

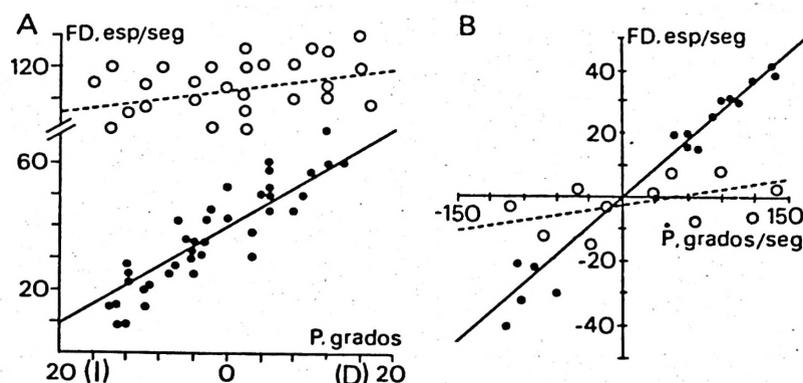


Fig. 3. Relación entre frecuencia de disparo y posición y velocidad ocular de dos neuronas del núcleo vestibular medial (lado izquierdo).

A) Relación entre la frecuencia de disparo (FD), en espigas/s y la posición del ojo derecho (P), en grados, de una neurona vestibular que proyectó al núcleo del MOE (los círculos negros representan los datos, la línea continua corresponde a la recta de regresión  $y = 39,5 + 1,5x$ ,  $r = 0,86$ ) y de una neurona vestibular que no proyectó (los círculos blancos representan los datos, la línea a trazos corresponde a la recta de regresión  $y = 105,8 + 0,36x$ ,  $r = 0,3$ ). I, D, izquierda y derecha, respectivamente. B) Relación entre la frecuencia de disparo (FD) y la velocidad ( $\dot{P}$ ) del ojo derecho en grados/s para las mismas neuronas que en A. Los círculos negros (datos) y la línea continua (recta de regresión  $y = -0,07 + 0,3x$ ,  $r = 0,97$ ) corresponde a la neurona vestibular premotora. Los círculos blancos (datos) y la línea a trazos (recta de regresión  $y = -2,7 + 0,05x$ ,  $r = 0,64$ ) corresponden a la neurona vestibular que no proyectó al núcleo del MOE.

los casos ( $n = 6$ ) no significativa, lo cual indicó su carencia de señal de posición ocular (fig. 3 A). Durante fijaciones oculares, el intervalo interespiga (inverso de la frecuencia instantánea de disparo) mostró una mayor variabilidad (1,7-3 veces) en las neuronas vestibulares premotoras que en las que no proyectaron al núcleo del MOE (no ilustrado). Ambos tipos de neuronas mostraron una variabilidad del intervalo interespiga mayor (2,5-5 veces) que la descrita para las motoneuronas del MOE (5, 14). La relación entre la tasa de disparo y la velocidad ocular durante movimientos sacádicos espontáneos reveló un pequeño componente de sensibilidad a la velocidad ( $r$ , valor de la pendiente de la recta ajustada) en las neuronas vestibulares premotoras. Los valores de  $r$  variaron entre 0,3 y 0,6 espigas/s/grado/s (fig. 3 B) resultando las correlaciones significativas ( $p \leq 0,01$ ). Las neuronas vestibulares que

no proyectaron al núcleo del MOE no mostraron sensibilidad a la velocidad ocular, según se deduce de las relaciones tasa-velocidad (fig. 3 B), presentando en todos los casos correlaciones no significativas. Para las neuronas vestibulares premotoras, la inhibición durante los sacádicos off fue más evidente que la activación para los sacádicos on (fig. 2 A).

*Actividad de las neuronas vestibulares premotoras durante estimulación vestibular.* — Las neuronas vestibulares premotoras fueron neuronas tipo I, es decir, respondieron con un aumento de actividad a la rotación de la cabeza hacia el lado homolateral y con una inhibición a la rotación hacia el lado contralateral (fig. 4 A). También se registró la actividad de neuronas tipo I que no proyectaron al núcleo del MOE (fig. 4 B) y de neuronas vestibulares tipo II (8), cuyo patrón de acti-

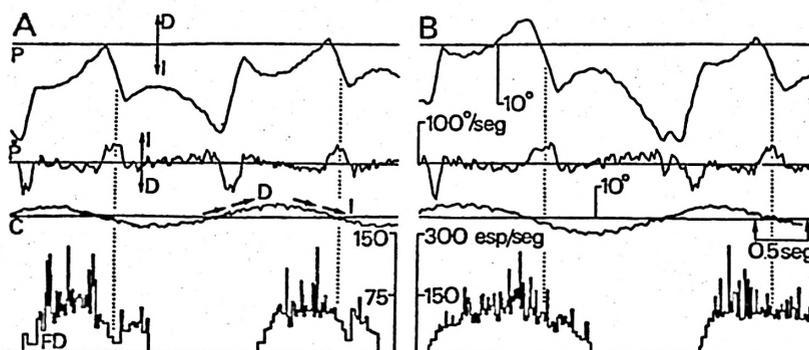


Fig. 4. Registro de dos neuronas del núcleo vestibular medial (lado izquierdo) durante estimulación vestibular.

A) Registro de una neurona vestibular activada desde el núcleo del MOE y con efecto postsináptico en el promedio. B) Registro de una neurona vestibular no activada y sin efecto en el promedio. P,  $\bar{P}$ , FD, I y D como en la fig. 2. Las líneas punteadas señalan la actividad de las neuronas durante movimientos sacádicos hacia la izquierda. Se indican las calibraciones en cada caso.

vidad durante la rotación fue inverso al de las neuronas tipo I y las cuales no proyectaron en ningún caso ( $n = 3$ ) al núcleo del MOE (20).

Las neuronas vestibulares premotoras presentaron una actividad durante la estimulación vestibular proporcional a la velocidad de la cabeza. Los valores del desfase entre la envolvente de la frecuencia de disparo y la posición ocular oscilaron entre  $90^\circ$  y  $96^\circ$  para una frecuencia de rotación sinusoidal de 0,2 Hz. Para esta misma frecuencia de rotación, el valor del desfase en las motoneuronas del MOE se ha descrito con un rango de  $10^\circ$  a  $20^\circ$  (5).

Si bien las neuronas vestibulares registradas, premotoras o no, mostraron un comportamiento semejante durante la fase lenta del reflejo vestibulo-ocular, su comportamiento fue distinto con respecto a la fase rápida del reflejo (sacadas). Las neuronas vestibulares premotoras se inhibieron durante las sacadas en la dirección *off* (fig 4 A). No se observó ninguna respuesta activadora durante los sacádicos *on* del reflejo, posiblemente, porque ocurrieron cuando la señal predominante sobre la neurona fue una inhibición a través del sis-

tema vestibular. Por el contrario, el patrón de disparo de las neuronas vestibulares que no proyectaron al núcleo del MOE no se modificó durante la fase rápida del reflejo vestibulo-ocular (fig. 4 B).

### Discusión

De acuerdo con los presentes resultados se ha demostrado que las neuronas del núcleo vestibular medial que proyectan al núcleo del MOE contralateral poseen señales de posición y velocidad ocular, además de la señal de velocidad de la cabeza.

Para la identificación de las neuronas vestibulares se empleó el test de colisión durante la activación antidrómica desde el núcleo del MOE. El uso exclusivo de este criterio hubiera sido insuficiente, ya que se podrían haber estimulado axones vestibulares de paso que no terminan en el núcleo del MOE (3, 19). Para asegurar la identificación de las neuronas vestibulares premotoras se utilizó la técnica del promedio disparado por una espiga (10, 15), registrada en el animal despierto (9). Esta técnica permitió identificar las neuronas

vestibulares que proyectan monosinápticamente sobre el núcleo del MOE (premotoras), así como la naturaleza, activadora o inhibidora, de la proyección. Los potenciales postsinápticos inducidos en el núcleo del MOE contralateral por las neuronas vestibulares premotoras fueron todos de tipo activador, y de amplitud similar a los obtenidos previamente (9).

Las neuronas vestibulares premotoras descritas en el presente trabajo son similares a las registradas por FUCHS y KIMM (12) en el núcleo vestibular medial de primates, y presentan valores semejantes de sensibilidad a la posición ( $k$ ) y a la velocidad ( $r$ ) ocular. Los axones TVP (*tonic-vestibular pause*) registrados por POLA y ROBINSON en el fascículo longitudinal medial de primates (21) presentan un comportamiento similar a las neuronas vestibulares descritas en este trabajo, ya que poseen señal de posición y velocidad ocular en adición a la señal de rotación de la cabeza. Sin embargo, la actividad de los axones TVP se relaciona principalmente con movimientos oculares y rotación de la cabeza en el plano vertical, los valores para  $k$  y  $r$  están incluidos en un rango más amplio y muchos de ellos se inhiben durante movimientos oculares rápidos en las dos direcciones. Esta discrepancia se puede deber a diferencias entre especies y/o al hecho de que otras neuronas (por ejemplo, las de la formación reticular subyacente al núcleo prepositus hipoglossi [6]) dotadas de señal de posición y velocidad ocular y de señal de rotación de la cabeza cursan también sus axones a través del fascículo longitudinal medial.

La frecuencia de disparo de las neuronas vestibulares premotoras se incrementó para sucesivas fijaciones oculares y para movimientos sacádicos hacia el lado contralateral (dirección *on*) y disminuyó para los movimientos sacádicos en la dirección *off*. Como es sabido, el núcleo prepositus hipoglossi y la formación reticular adyacente están íntimamente relacionados con la génesis de los movimientos oculares en

el plano horizontal (7, 9, 16) y presentan múltiples conexiones recíprocas con los núcleos vestibulares (18). Se puede suponer, por tanto, que las señales de posición y velocidad ocular presentes en las neuronas vestibulares oculomotoras provienen de dichas estructuras.

Durante el reflejo vestibulo-ocular, el disparo de estas neuronas vestibulares oculomotoras, tipo I (8), correlacionó con la velocidad de la cabeza. Sobreimpuesta a esta señal se demostró la presencia de una clara inhibición durante movimientos rápidos compensatorios en la dirección *off*. Esta señal inhibidora es simultánea con la que llega al MOE desde las neuronas de brote inhibitor de la formación reticular (15). Es posible que estas mismas neuronas reticulares produzcan la inhibición sobre las neuronas vestibulares premotoras. El decremento de actividad vestibular durante los movimientos oculares rápidos compensatorios en dirección *off* evita la activación del núcleo del MOE contralateral y contribuye a su inhibición de un modo indirecto.

Los núcleos prepositus hipoglossi (7, 9) y vestibular (13) han sido propuestos como centros de integración alternativos de la señal de velocidad del ojo para obtener la señal de posición necesaria en el mantenimiento de las fijaciones oculares. Recientemente se ha demostrado que ambas estructuras constituyen centros premotores que proyectan sobre el núcleo del MOE (9). A partir de estos y otros resultados (7, 18, 19) es lógico pensar que existe una fuerte interconexión funcional entre ambas estructuras, ya que el núcleo vestibular obtiene información de la posición ocular durante los movimientos oculares espontáneos desde el núcleo prepositus hipoglossi, y éste de la posición del ojo durante la rotación de la cabeza desde el núcleo vestibular.

#### Agradecimientos

Agradecemos al prof. J. M. Delgado-García la ayuda prestada en la preparación del manuscrito.

### Resumen

Se registra en el gato despierto la actividad de neuronas del núcleo vestibular medial que proyectan al núcleo del motor ocular externo contralateral (neuronas vestibulares premotoras) durante movimientos espontáneos e inducidos por estimulación vestibular. Las neuronas registradas se identifican mediante su activación antidrómica y por el potencial postsináptico inducido en el núcleo del motor ocular externo. La actividad de las neuronas identificadas del núcleo vestibular medial correlaciona significativamente con la posición y velocidad ocular en el plano horizontal hacia el lado contralateral, con pausas durante movimientos sacádicos homolaterales. Su actividad también se relaciona con la velocidad de la cabeza hacia el lado homolateral. Se discute el posible significado funcional y origen de las señales de posición y velocidad presentes en las neuronas vestibulares registradas.

**Palabras clave:** Núcleo vestibular medial, Núcleo del motor ocular externo, Sistema oculomotor.

### Bibliografía

1. Baker, R. y Berthoz, A.: *J. Neurophysiol.*, 37, 195-217, 1974.
2. Baker, R. y Spencer, R.: *Jap. J. EEG EMG Suppl.*, 31, 49-59, 1981.
3. Berthoz, A., Yoshida, K. y Vidal, P. P.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 374, 144-156, 1981.
4. De la Cruz, R. R., Escudero, M. y Delgado-García, J. M.: *Eur. J. Neurosc.*, 1, 1989 (en prensa).
5. Delgado-García, J. M., Del Pozo, F. y Baker, R.: *Neuroscience*, 17, 929-952, 1986.
6. Delgado-García, J. M., Vidal, P. P., Gómez, C. y Berthoz, A.: *Exp. Brain Res.*, 70, 585-589, 1988.
7. Delgado-García, J. M., Vidal, P. P., Gómez, C. y Berthoz, A.: *Neuroscience*, 29, 291-307, 1989.
8. Duensing, F. y Schaefer, K. P.: *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 198, 225-252, 1958.
9. Escudero, M. y Delgado-García, J. M.: *Exp. Brain Res.*, 71, 218-222, 1988.
10. Fetz, E. E., Cheney, P. D. y German, D. C.: *Brain Res.*, 114, 505-510, 1976.
11. Fuchs, A. F. y Robinson, D. A.: *J. Appl. Physiol.*, 21, 1068-1070, 1966.
12. Fuchs, A. F. y Kimm, J.: *J. Neurophysiol.*, 38, 1140-1161, 1975.
13. Galiana, H. L. y Outerbridge, J. S.: *J. Neurophysiol.*, 51, 210-241, 1984.
14. Gómez, C., Canals, J., Torres, B. y Delgado-García, J. M.: *Brain Res.*, 381, 401-404, 1986.
15. Hikosaka, C., Igusa, Y., Nakao, S. y Shimazu, H.: *Exp. Brain Res.*, 33, 337-352, 1978.
16. López-Barneo, J., Darlot, C., Berthoz, A. y Baker, R.: *J. Neurophysiol.*, 47, 329-352, 1982.
17. Lorente de No, R.: *Arch. Neurol. Psychiatry*, 30, 244-291, 1933.
18. McCrea, R. A. y Baker, R.: *J. Comp. Neurol.*, 237, 377-407, 1985.
19. McCrea, R. A., Yoshida, K., Berthoz, A. y Baker, R.: *Exp. Brain Res.*, 40, 468-473, 1980.
20. Nakao, S., Sasaki, S., Schor, R. H. y Shimazu, H.: *Exp. Brain Res.*, 45, 371-385, 1982.
21. Pola, J. y Robinson, D. A.: *J. Neurophysiol.*, 41, 245-259, 1978.
22. Shimazu, H.: En «Control of Gaze by Brain Stem Neurons» (R. Baker y A. Berthoz, eds.). Elsevier, Amsterdam, 1977, pp. 225-233.