REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA, 38, 295-302, 1982

Efectos de la axotomía distal sobre los potenciales de campo del núcleo motor ocular externo en el gato despierto *

R. Serra, J. Ribas y J. M. Delgado-García **

Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Sevilla

(Recibido el 22 de junio de 1981)

R. SERRA, J. RIBAS and J. M. DELGADO-GARCIA. *Effects of Peripheral Axotomy on Abducens Nucleus Field Potentials in the Alert Cat.* R. esp. Fisiol., 38, 295-302, 1982.

The electrophysiology of abducens nucleus antidromic field potentials from onset of peripheral axotomy up to reinnervation has been studied in the alert cat. Nerve section induced a reduction of 80 % in the amplitude of the antidromic field potential. This reduction began from 2 to 5 days after axotomy and returned to control values from 20 to 30 days later, in parallel with recovery of oculomotor function. During the critical chromatolytic period, the latency of the antidromic potentials increased, while the amplitude of the antidromic field potential could be easily modified by adequate visual and/or vestibular stimulation. In contrast to control motoneurons, axotomized cells showed a noticeable variability in their activation latency, as well as a higher threshold for the antidromic invasion of the IS-SD compartments.

Existen numerosos estudios acerca de las reacciones metabólicas y morfológicas a la lesión neuronal, así como sobre las alteraciones de la excitabilidad y de la transmisión sináptica que ocurren en las neuronas durante el proceso de la cromatolisis (5, 9, 15). Un aspecto interesante, aún poco conocido, es el comportamiento en el animal despierto de poblaciones neuronales axotomizadas (1). Por otra parte, el núcleo del motor ocular externo (nMOE) es una estructura muy adecuada para tal estudio ya que su potencial de campo antidrómico es fácil de identificar y registrar (6) y, además, se conoce bastante bien tanto la organización aferente del núcleo como la disposición de los somas y árboles dendríticos de sus motoneuronas (Mns) (2-4, 6, 17).

El objeto del presente trabajo es el estudio en el gato despierto de las características de los potenciales de campo antidrómicos del nMOE desde la axotomización distal de sus Mns hasta la reinervación. También se registra la activación

* Trabajo realizado con una ayuda de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

** A quien debe dirigirse la correspondencia.

antidrómica de Mns axotomizadas del nMOE con objeto de comparar sus características electrofisiológicas con las de Mns normales del mismo núcleo (1, 6, 7, 16). Por último, se estudia el efecto de la estimulación vestibular y visual sobre el potencial de campo antidrómico del nMOE y sobre la activación antidrómica de sus Mns antes y después de la sección del nervio del MOE homolateral (1, 7).

Material y métodos

Se utilizaron 4 gatos adultos con pesos comprendidos entre 2 y 3,5 kg. A cada animal se le implantaron bajo anestesia (35 mg/kg pentobarbital sódico, i.p.) 3 electrodos para el registro del EOG en el plano horizontal y 2 electrodos de estimulación, uno en el nervio del MOE homolateral al área de registro y otro en el núcleo del motor ocular común contralateral. Al mismo tiempo se le implantó un sistema de inmovilización cefálica para el registro crónico, descrito previamente (6). El nMOE se abordó a través del cerebelo intacto (1). Los registros se realizaron con micropipetas llenas de una solución de ClNa 2 M (2-4 Mohmios de impedancia). Como preamplificador se utilizó un NEX-1 de Biomedical Engineering Co. La actividad eléctrica registrada se amplificó a través de un sistema estándar y se filtraron las frecuencias inferiores a 0,1 Hz y superiores a 10 kHz. La axotomía se realizó en la órbita ocular, aproximadamente a 0,5 mm de la entrada del nervio del MOE en su propio músculo.

Las sesiones de registro se realizaron en días alternos desde 10 días antes hasta 60 días después de la axotomía. Como estímulos se utilizaron pulsos catódicos de 50-70 μs de duración e intensidad de 50-500 μA. La frecuencia de estimulación varió de 0,5-20 Hz. La estimulación vestibular consistió en la rotación sinusoidal ($\pm 15°$) del animal en el plano horizontal. Dicha rotación se hizo de forma manual, sin que por ello se perturbase la calidad de los registros (1). La estimulación visual consistió en el movimiento de luces y siluetas en el campo visual del animal, con objeto de inducirle a realizar movimientos sacádicos (1, 7).

Los potenciales de campo, la actividad de las neuronas identificadas antidrómicamente (7), el EOG y la estimulación sinusoidal de los canales semicirculares horizontales se grabaron en una cinta magnética instrumental (Hewlett Packard 3600) de 4 canales para su análisis posterior. Una vez concluido cada experimento, se sacrificó al animal con una sobredosis de anestesia y se perfundió por vía intracardíaca con una solución salina seguida de otra de formaldehído al 10 %. El tronco del encéfalo se cortó en rodajas de 50 μm con objeto de comprobar la localización de los electrodos de estimulación. Asimismo se comprobó la reinervación del músculo recto externo, previamente denervado.

Resultados

En la situación control, la estimulación eléctrica del nervio del MOE produjo un característico potencial de campo antidrómico en los confines anatómicos del nMOE. Dicho potencial de campo apareció como una onda positiva-negativa con una latencia media para el pico positivo de $0,3 \pm 0,04$ (E.S.) ms y de $0,7 \pm 0,05$ ms para el pico negativo. La amplitud del potencial varió de 2 a 4 mV, dependiendo de la localización central o periférica en el núcleo del electrodo de registro. De acuerdo con la teoría del campo cerrado (13), la primera onda positiva corresponde a la llegada de la onda de despolarización antidrómica al segmento inicial, mientras, que la onda negativa se debe a la invasión del segmento inicial y del compartimiento somato-dendrítico (espacios IS-SD). Un aspecto interesante es que

en la situación control la amplitud del potencial de campo antidrómico, inducido por estímulos dobles de la intensidad umbral, no se modificó más de ± 5 % ante la presencia de estímulos visuales y/o vestibulares (no ilustrado). Entre 2 y 5 días después de la axotomía, el potencial de campo antidrómico se redujo hasta un 86 % de su valor inicial, especialmente en su componente negativo (fig. 1). Unos 10 a 15 días después de la sección del nervio, el potencial de campo antidrómico se recuperó hasta 2/3 de su valor control, alcanzando éste de 20 a 30 días después de la axotomización, en paralelo con la recuperación de la función motora ocular, como pudo comprobarse por el EOG de los animales (no ilustrado). Este fenómeno siguió una evolución similar en los 4 animales estudiados (70 a 86 % de reducción máxima en la amplitud del potencial de campo antidrómico tras la axotomía).

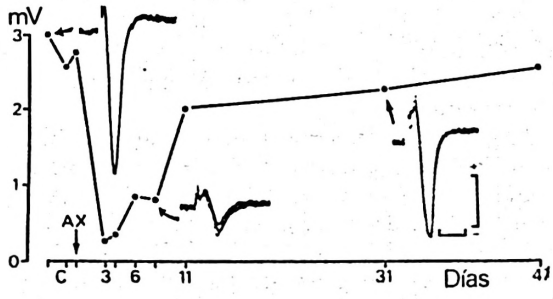

Fig. 1. *Potencial de campo antidrómico registrado en el núcleo del motor ocular externo en el período comprendido entre la axotomía de su nervio periférico y su posterior reinervación.*

Gato #3. Se representa la amplitud máxima del campo (mV) durante tres días de control (C) y en los días siguientes a la axotomía (AX.). Se muestran tres ejemplos del potencial de campo antidrómico registrado. En todos los casos la intensidad del estímulo fue doble de la umbral. Calibración 1 ms y 1 mV, respectivamente. Polaridad como se indica. Nótese la recuperación casi completa de la amplitud del campo antidrómico 30 días después de la axotomía.

Por otra parte, en los 10 a 15 días siguientes a la axotomía también se incrementó la latencia para los componentes positivo (20-60 %) y negativo (20-50 %) del potencial antidrómico. El incremento en la latencia de activación del potencial antidrómico regresó a los valores controles a partir de los 25-35 días siguientes a la axotomía.

Otra característica importante del potencial de campo antidrómico durante el período crítico (5-15 días tras la axotomía), fue la variabilidad de su amplitud en función de la presencia de estímulos vestibulares o visuales adecuados. En la figura 2*A* se muestra cómo, tras la axotomía, el potencial antidrómico producido en el nMOE por un estímulo de intensidad doble de la umbral aumentó o disminuyó en un 100 % su amplitud por la presencia de estimulación visual o vestibular. Dichos cambios de la amplitud del potencial de campo, según la fase de rotación sinusoidal de la cabeza (fig. 2*B*, izq.) o la dirección de los movimientos sacádicos (fig. 2*B*, dcha.) se observaron en todos los puntos (n = 106) donde se registraron potenciales antidrómicos tras la sección del nervio del VI par. La variabilidad en la amplitud del potencial de campo tras la axotomía indica la dependencia, para la invasión antidrómica de las Mns axotomizadas, de facilitación de origen sináptico. Este hecho no ocurre en Mns normales del nMOE, ya que en éstas un estímulo antidrómico dos veces superior al umbral siempre invade los espacios IS-SD (4, 7).

En cualquier caso, durante el período crítico de la axotomía, el potencial de campo antidrómico del nMOE no alcanzó nunca los valores controles, incluso en presencia de estimulación vestibular y visual, indicando la existencia de un grupo de somas de Mns imposibles de invadir antidrómicamente. La recuperación posterior de ese grupo de Mns lo demuestra el hecho de que 25 a 35 días después de la axotomía, la amplitud del potencial de

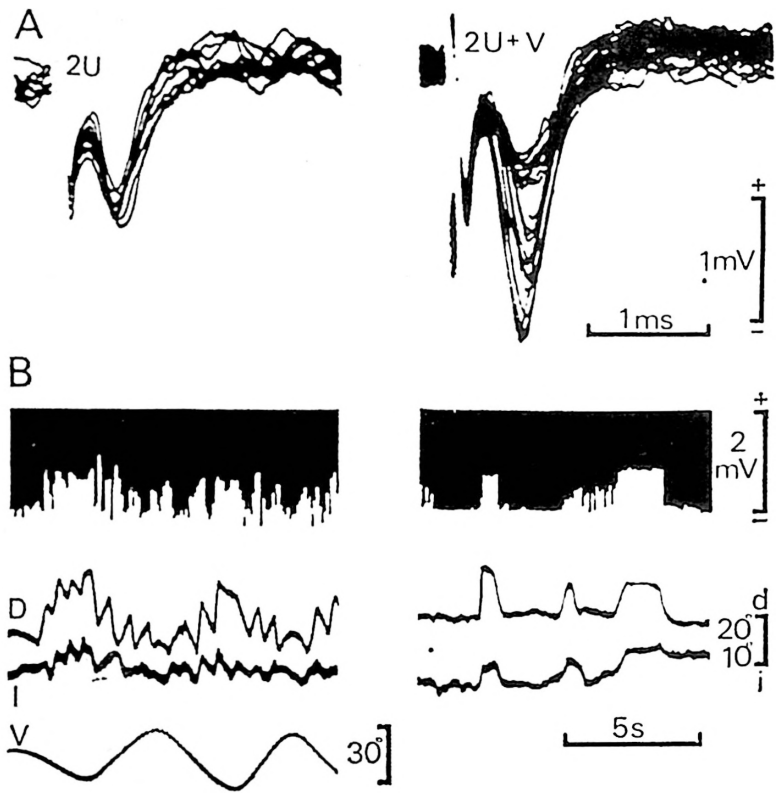

Fig. 2. *Modificaciones en la amplitud del potencial de campo antidrómico del núcleo motor ocular externo axotomizado.*

A, izq.: Amplitud del potencial antidrómico 6 días después de la axotomía. Gato #2. Estimulación doble del valor umbral (2 U), a 10 cps. Animal alerta, habitación en penumbra. A, dcha.: Amplitud del potencial antidrómico durante la rotación sinusoidal del animal (± 15°). Idéntica intensidad de estimulación que en la figura de la izq. Nótese la variabilidad de la amplitud del potencial de campo dependiendo de la posición de la cabeza. B, izq.: Representación de la amplitud del potencial antidrómico *(arriba)* y de los movimientos oculares en el plano horizontal (ojo dcho.: D; ojo izq.: I) durante la rotación sinusoidal del animal en el mismo plano (V). Registro realizao 9 días después de la axotomía en el gato #3. Nótese que la amplitud del potencial antidrómico se relaciona con la velocidad de rotación de la cabeza y con la posición del ojo en la órbita. Calibración: 20° para D y 10° para I. Polaridad del campo como se indica. Intensidad del estímulo 2 veces la umbral, a 20 cps. B, dcha.: Id. que en la figura de la izq., pero durante movimientos sacádicos inducidos por estímulos visuales.

campo antidrómico fue de nuevo similar a la de los controles.

Los fenómenos referidos hasta aquí a nivel de la población de Mns del nMOE tuvieron naturalmente su reflejo a nivel unitario. En la figura 3*A* se muestra cómo un estímulo antidrómico (2 × umbral) fue capaz de activar selectivamente una Mn sólo cuando los ojos ocuparon posiciones excéntricas en la dirección de activación; una explicación detallada de dicho fenómeno se ofrece en el pie de dicha figura.

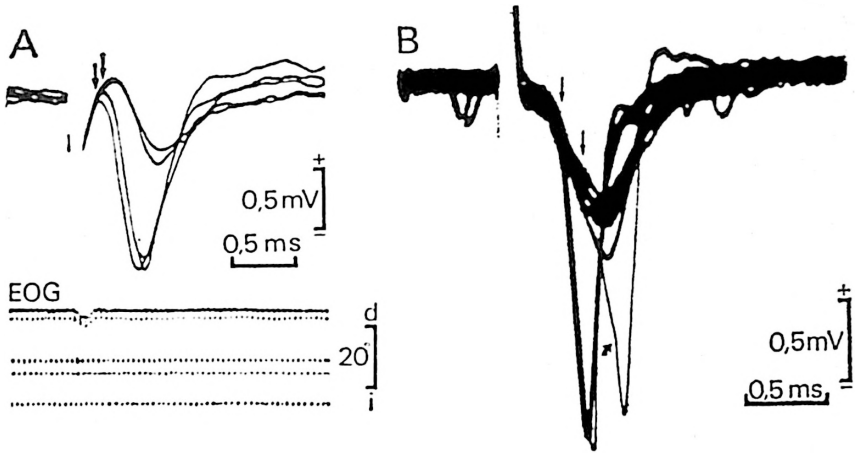

Fig. 3. *Activación antidrómica de motoneuronas (Mns) axotomizadas del núcleo del motor ocular externo.*

A. Relación entre la amplitud del potencial de campo antidrómico y la posición en el plano horizontal de los ojos (EOG) en la órbita. Gato ♯2, 9 días después de la axotomía. Nótese que cuando el ojo está desplazado a la derecha (d) (los dos trazos superiores del EOG) un estímulo doble del umbral sólo produce un campo de 0,5 mV de amplitud. Con el ojo desplazado a la izquierda (i), el mismo estímulo es capaz de activar antidrómicamente una Mn. La latencia de activación de dicha Mn disminuyó (flechas) con una posición aún más extrema del ojo en la dirección de activación. B. Facilitación de la activación antidrómica de una Mn durante la estimulación vestibular (rampas hacia la derecha de 30° de amplitud a 0,25 Hz). Gato ♯3, 6 días después de la axotomía. Nótese que el estímulo (dos veces la intensidad umbral, a 10 Hz) produce en un caso la invasión del segmento inicial con latencia distinta (segunda flecha vertical), así como la aparición de una inflexión en el momento correspondiente a la invasión del compartimento SD (flecha curva).

Otro aspecto característico de la invasión antidrómica de Mns axotomizadas fue la variabilidad de su latencia de activación (fig. 3*B*), caso prácticamente inexistente en Mns controles, excepto cuando se aplican estímulos a frecuencias de más de 25 Hz (16). Es interesante señalar que durante el período crítico, la activación antidrómica de interneuronas del nMOE (7) presentó idénticas características que durante los controles (DELGADO-GARCÍA *et al.*, en preparación).

Discusión

La disposición espacial en campo cerrado de las Mns del nMOE hace posible el registro, en los límites anatómicos de dicho núcleo, de potenciales extracelulares relativamente grandes, especialmente en la proximidad de los somas neuronales (1-3, 7). La disminución de la amplitud del potencial de campo antidrómico del nMOE tras la sección distal de sus proyecciones axonales, se corresponde con una disminución del número de Mns que presenta invasión de sus espacios IS-SD (4, 13). Tal disminución se debe a un descenso de la excitabilidad neuronal, sobre todo en lo que respecta a la porción no mielinizada del axón y al cono axónico (1, 6). Además, se sabe que en estas Mns la excitabilidad del axón en su parte mielinizada no se modifica grandemente (1, 6, 11), por lo que es de suponer que, en el animal despierto, estímulos antidrómicos por encima del valor umbral para el

axón producen ondas M en todos los segmentos iniciales de las Mns axotomizadas, pero sólo invaden un pequeño porcentaje de sus somas neuronales (1).

La disminución de la velocidad de conducción axónica en Mns axotomizadas del nMOE observada en el presente experimento ha sido descrita también para las Mns espinales (12, 14). Las Mns axotomizadas del nMOE difieren del modelo clásico de neuronas en proceso de cromatolisis descrito para las Mns espinales, en que no presentan un aumento de excitabilidad dendrítica tras la axotomía, ni tampoco potenciales de acción dendríticos o cualquier otro tipo de respuestas parciales activas (1, 8-10). Por otra parte, dichas Mns no poseen el alto factor de seguridad descrito en Mns espinales y del núcleo hipogloso para la invasión del espacio somato-dendrítico (SD) (1, 8-10, 18).

De acuerdo con las características mencionadas, las Mns axotomizadas del nMOE requieren, para su invasión antidrómica en el animal despierto, de facilitación sináptica de origen visual, vestibular o reticular. De ahí que, dependiendo de la actividad sináptica presente, un mismo estímulo antidrómico produzca o no la invasión de los espacios IS-SD. Para ello es necesaria la suma, a nivel del segmento inicial, de la onda M procedente de la estimulación axónica con potenciales propagados electrotónicamente desde el compartimiento dendrítico distal. En estas condiciones se puede prever que la actividad espontánea de tales Mns será muy reducida, salvo cuando los ojos presenten posiciones excéntricas en la órbita en la dirección de activación o cuando se someta al animal a estímulos visuales o vestibulares de suficiente intensidad (16).

Resumen

Se estudian en el gato despierto las características del potencial de campo antidrómico registrado en el núcleo del motor ocular externo (nMOE) en el período comprendido desde la sección distal de su nervio hasta la reinervación. La axotomía del MOE produce una disminución máxima de un 86 % en la amplitud del potencial de campo antidrómico. Dicha disminución se inicia a los 2-5 días después de la axotomía y se mantiene hasta los 20-30 días en que se recupera, junto con la función motora ocular. Durante el período crítico de cromatolisis también aumenta la latencia de activación del potencial antidrómico. En el mismo período, la amplitud del potencial de campo antidrómico se modifica con la aplicación de estímulos vestibulares y/o visuales. En contra de lo que manifiestan las motoneuronas normales del nMOE, las axotomizadas muestran cierta variabilidad en su latencia de activación, así como un alto umbral para la invasión de los espacios IS-SD.

Bibliografía

1. BAKER, R., DELGADO-GARCÍA, J. M. y MCCREA, R.: En «Lesion-Induced Neuronal Plasticity in Sensorimotor Systems» (H. Flohr y W. Precht, eds.). Springer-Verlag, Berlín, 1981, pp. 51-63.
2. BAKER, R., MANO, N. y SHIMAZU, H.: *Brain Res.*, **15**, 573-576, 1976.
3. BAKER, R., MANO, N. y SHIMAZU, H.: *Brain Res.*, **15**, 577-580, 1976.
4. BAKER, R. y MCCREA, R.: En «Integration in the Nervous System» (V. Wilson y A. Asanuma, eds.). Igakaku Shoin Ltd., Tokio, 1979, pp. 97-121.
5. CRAGG, B. G.: *Brain Res.*, **23**, 1-21, 1970.
6. DELGADO-GARCÍA, J. M., BAKER, R., ALLEY, K. y MCCREA, R.: *The Society for Neuroscience Meeting*, 1978.
7. DELGADO-GARCÍA, J. M., BAKER, R. y HIGHSTEIN, S. M.: En «Control of gaze by brain stem neurons» (R. Baker y A. Berthoz, eds.). Elsevier, Amsterdam, 1977, pp. 291-300.
8. ECCLES, J. C., LIBET, B. y YOUNG, R. R.: *J. Physiol.*, **143**, 11-40, 1958.
9. KUNO, M.: En «Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology», 40, pp. 457-463, 1976.
10. KUNO, M. y LLINAS, R.: *J. Physiol.*, **210**, 807-821, 1970.

11. KUNO, M. y LLINAS, R.: *J. Physiol.*, **210**, 823-838, 1970.
12. KUNO, M., MIYATA, Y. y MUÑOZ-MARTÍNEZ, E. J.: *J. Physiol.*, **240**, 725-739, 1974.
13. LORENTE, DE NO, R.: *Rockefeller Inst. Med. Res.*, **132**, 1-150, 1947.
14. MENDELL, L. M., MUNSON, J. B. y SCOTT, J. G.: *J. Physiol.*, **255**, 67-79, 1976.
15. PURVES, D. y LICHTMAN, J. W.: *Physiol. Rev.*, **58**, 821-862, 1978.
16. RIBAS, J., SERRA, R. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **38**, 303-310, 1982.
17. SCHWINDT, P. C., RICHTER, A. y PRECHT, W.: *Brain Res.*, **60**, 259-262, 1973.
18. TAKATA, M., SHOHARA, E. y FUJITA, S.: *Neuroscience*, **5**, 413-420, 1980.