

Efectos de la axotomía sobre la actividad de las motoneuronas del núcleo motor ocular externo durante movimientos sacádicos*

B. Torres **, C. Gómez y J. M. Delgado-García

Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla
41012-Sevilla

(Recibido el 16 de julio de 1984)

B. TORRES, C. GOMEZ and J. M. DELGADO-GARCIA. *Effects of Axotomy on Abducens Nucleus Motoneurons Activity During Eye Saccadic Movements*. Rev. esp. Fisiol., 41, 73-82. 1985.

The instantaneous firing frequency of cat abducens nucleus motoneurons (Mns) during spontaneous saccadic eye movements has been analyzed. Recordings were carried out from both control and axotomized Mns. Firing frequency of control Mns increased gradually during the first four to five interspike intervals, at which point maximum firing frequency was reached. Axotomized Mns showed an increase in firing frequency only up to the second or third interval, decreasing rapidly then. Linear relationships, with high correlation coefficients, were established between the first five intervals versus maximum frequency or peak eye velocity during saccades, in both control and axotomized Mns. However, the latter showed a decrease in the linear correlation from the third interval because of the decrease in the slope of the relationship. Functional implications of these results are discussed according to the present hypothesis on the effects of axotomy upon oculomotor neurons.

Key words: Abducens nucleus, Axotomy, Motoneurons, Saccadic movements.

La axotomía introduce gran número de modificaciones metabólicas, morfológicas y electrofisiológicas en las neuronas

lesionadas (1, 9, 12). Los cambios electrofisiológicos detectados se han explicado, en parte, como una disminución de la eficacia sináptica, debido a la retirada de botones sinápticos activadores (1, 7, 8) o inhibidores (15), o por disminución de la conductancia a diferentes iones (1, 9). Estos cambios producen respuestas anómalas en las frecuencias de disparo presentes en las neuronas cromatolíticas (4, 5). Sin embargo, todos estos resultados se han obtenido en el animal aneste-

* Trabajo realizado con ayuda de la «Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica» y del «Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social».

** A quien debe dirigirse la correspondencia: Dto. de Fisiología Animal, Facultad de Biología. Avda. Reina Mercedes, s/n. 41012-Sevilla.

siado sabiéndose poco de lo que ocurre en el animal despierto (10, 14).

El núcleo motor ocular externo (nMOE) tiene excelentes características para el estudio de la respuesta neuronal a la axotomía en el animal despierto ya que, desde un punto de vista morfológico, se conocen en detalle los patrones ultraestructurales y citométricos del soma y árboles dendríticos de sus motoneuronas (Mns), las clases de entradas sinápticas que éstas reciben y su procedencia (2, 13). Por otra parte, existe amplia información sobre la actividad funcional cualitativa y cuantitativa de las Mns del nMOE e, incluso, de algunas de las neuronas premotoras que proyectan monosinápticamente sobre ellas desde otras estructuras troncoencefálicas (1, 11, 16).

El objeto del presente trabajo es el análisis, en el gato despierto, de la evolución en las frecuencias de disparo durante movimientos oculares rápidos (sacádicos), en las Mns del nMOE sometidas a sección del nervio tanto a nivel periférico (a la entrada del nervio en el músculo recto lateral) como central (a la salida del nervio del tronco del encéfalo).

Material y métodos

Se utilizaron 6 gatos adultos con pesos comprendidos entre 2 y 3,5 kg. A cada animal se les implantaron bajo anestesia (35 mg de pentobarbital sódico, i.p.) 3 electrodos para el registro del EOG y 2 electrodos de estimulación, uno en el nervio del MOE homolateral al registro y otro en el núcleo del motor ocular común contralateral. Al mismo tiempo se le colocó un sistema de inmovilización cefálica para facilitar el registro crónico de la actividad neuronal. Los registros se realizaron con micropipetas de vidrio llenas de solución de ClNa 2-M (2-4 Mohmios de impedancia). Como preamplificador se utilizó un NEX-1 de Biomedical Engineering Co. La actividad eléctrica de

las Mns registradas se amplificó a través de un sistema estándar filtrándose las frecuencias inferiores a 0,1 Hz y superiores a 10 KHz. Así mismo, se registró la posición ocular de ambos ojos mediante la técnica del seguidor magnético de la posición ocular. La actividad de las Mns identificadas antidrómicamente, junto con la posición ocular y la estimulación vestibular se grabó en una cinta magnética instrumental (Hewlett Packard 3968 A) de 8 canales. Los datos se analizaron en un osciloscopio digital Norland 3001 A. Los 6 gatos utilizados se emplearon en tres grupos experimentales: dos sirvieron como controles, a dos se les practicó la axotomía periférica y a los otros dos se les practicó la axotomía central. La axotomía se realizó de acuerdo con las técnicas descritas en otro lugar (11, 14).

Una vez concluido cada experimento se sacrificó el animal mediante una sobredosis de anestesia y se perfundió por vía intracardiaca con una solución salina seguida de formaldehído al 10 %. El tronco del cerebro se cortó en rodajas de 50 μ m con objeto de comprobar la localización de los electrodos de estimulación, así como las posibles lesiones producidas en la zona de registro.

Resultados

Las Mns del nMOE utilizadas como controles presentaron una actividad tónica relacionada con la posición del ojo en la órbita, de modo que sus frecuencias de disparo aumentaron con las posiciones más excéntricas del globo ocular en la dirección de activación y disminuyeron con las fijaciones oculares en la dirección de inactivación. Estas Mns controles también mostraron una actividad fásica o en brote relacionada con la presencia de movimientos sacádicos, siempre que éstos ocurriesen en la dirección de activación. Por el contrario, las Mns axotomizadas se mostraron incapaces de

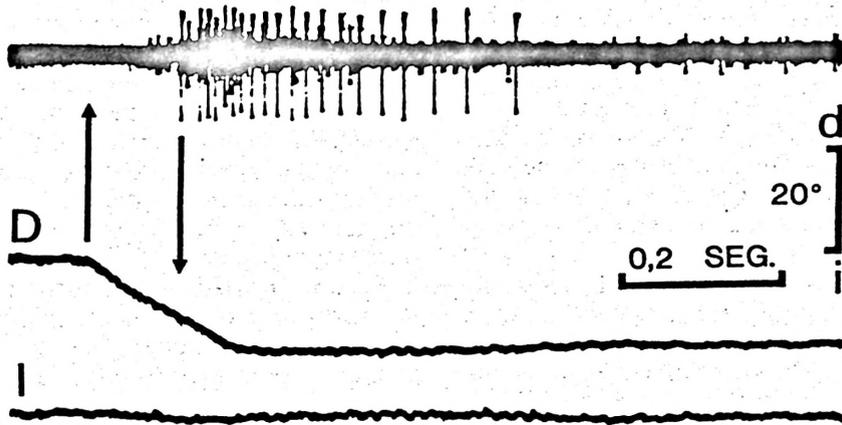


Fig. 1. Actividad de una motoneurona axotomizada del núcleo motor ocular externo durante un movimiento sacádico en la dirección de activación. Se observa pérdida del componente tónico de disparo, retraso en el inicio de la actividad neuronal y ausencia de movimiento del ojo izquierdo (I) tras la sección del nervio del motor ocular externo del mismo lado. Las flechas indican el inicio del movimiento del ojo derecho (D) y de la actividad neuronal.

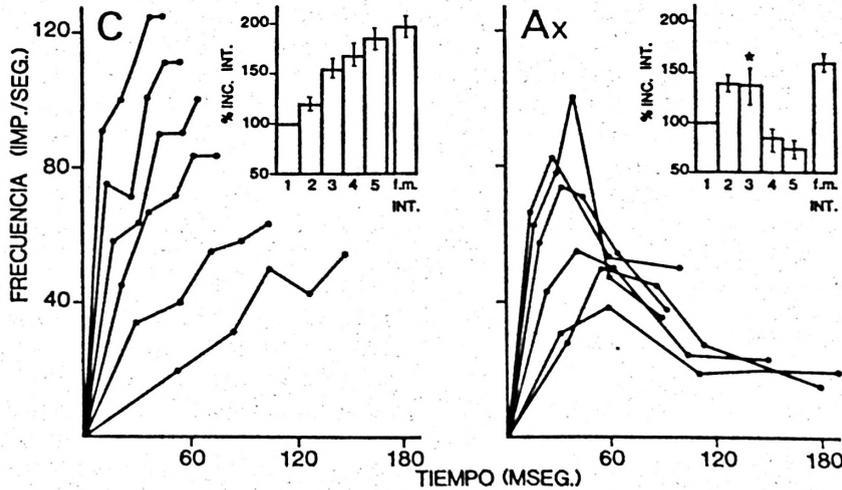


Fig. 2. Evolución de la frecuencia instantánea de disparo de las motoneuronas (Mns) controles (C) y axotomizadas (Ax) del núcleo motor ocular externo durante movimientos sacádicos. C) Cinética de subida de la frecuencia de disparo en una Mn control durante 6 movimientos sacádicos; la frecuencia máxima (f.m.) se alcanzó durante el cuarto o quinto intervalo. Ax) Cinética de subida de la frecuencia de disparo en una Mn axotomizada centralmente durante 6 movimientos sacádicos; la Mn alcanzó prematuramente su f.m. durante el segundo o tercer intervalo. En la parte superior derecha se muestran los histogramas del porcentaje de incremento de la frecuencia de los diferentes intervalos y de f.m. con respecto al primer intervalo (% inc. int.). Las barras indican el error típico en la determinación de la media. En Ax aparece disminución de la media de los intervalos cuarto y quinto con respecto al tercero; la estrella marca el mayor error típico presente en este intervalo.

mantener el componente tónico de la frecuencia de disparo durante fijaciones oculares (fig. 1), excepto cuando el ojo ocupó posiciones muy excéntricas en la dirección de activación. En cambio, las Mns axotomizadas mantuvieron, aunque de forma distinta, su actividad fásica durante los movimientos sacádicos en la dirección de activación.

A todas las neuronas estudiadas se les determinó su umbral de activación, es decir, la posición del ojo en la órbita para la cual la neurona presentó la mínima actividad tónica. En el análisis de la evolución de las frecuencias de disparo presentes en las Mns durante movimientos sacádicos se tomaron exclusivamente aquellos movimientos que se iniciaron desde posiciones oculares entre 0 y 4 grados a la derecha del umbral de activación de la Mn estudiada. De esta forma se evitó la presencia de actividad tónica inicial, pudiéndose determinar claramente los intervalos entre los potenciales de acción producidos durante los movimientos sacádicos. La figura 2 C muestra la evolución de las frecuencias de disparo, medida como el inverso del intervalo de tiempo entre dos potenciales de acción, que presentó una Mn control durante 6 movimientos. En la mayoría de los casos la frecuencia máxima (f.m.) se alcanzó durante el cuarto o quinto intervalo. Posteriormente, la frecuencia disminuyó hasta alcanzar un nivel de disparo correlacionado con la nueva posición ocular. De acuerdo con los resultados obtenidos la f.m. se relacionó con los parámetros del movimiento, es decir, velocidad máxima, amplitud y duración (no ilustrado). La cinética de subida hasta dicha frecuencia varió, siendo más lenta en los movimientos que requirieron menor f.m., y viceversa. Concretamente, en los 6 ejemplos mostrados en la figura 2 C el tiempo invertido en alcanzar la f.m. varió en un rango de 100 ms (entre 47 y 147 ms), mostrándose una relación inversa entre la f.m. y el tiempo empleado

en conseguirla, fenómeno que venía implícito desde el primer intervalo, ya que los valores tomados por éste cambiaron paralelamente a los de f.m. (figs. 2 C y 3 C). Mediante histograma de frecuencias se muestra la subida en porcentaje respecto del primer intervalo, del segundo, tercero, cuarto, quinto y de la f.m. (representados en la figura 2 C como 1, 2, 3, 4 y 5), así como el error típico establecido en la determinación de la media. Se observa una subida paulatina de la media de cada grupo hasta el quinto intervalo donde prácticamente se alcanzó la f.m.

La figura 2 Ax muestra la evolución de las frecuencias instantáneas de disparo que presentó una Mn axotomizada, tomándola en supuestos análogos a los considerados para las controles. Las Mns lesionadas evidenciaron un agotamiento prematuro en la cinética del brote de actividad que acompaña a los movimientos sacádicos, ya que su f.m. se alcanzó durante el segundo o tercer intervalo, cayendo gradualmente después; la f.m. fue sensiblemente inferior a la de las controles. Los ejemplos que se muestran se tomaron de Mns lesionadas centralmente, ya que en las sometidas a lesión periférica el efecto de agotamiento prematuro fue menos evidente. El histograma de frecuencias muestra el porcentaje de subida respecto del primer intervalo, de los cinco primeros intervalos y de la f.m. y el error típico establecido en la determinación de la media. Estos datos se obtuvieron en una Mn axotomizada centralmente para un total de 20 movimientos sacádicos y se observan los fenómenos anteriormente citados, es decir, el agotamiento prematuro (la media de los intervalos cuarto y quinto es menor que la del tercero) en el incremento de la frecuencia de disparo y la disminución de la f.m. media. El error típico en la determinación de la media fue sensiblemente mayor durante el tercer intervalo dado que, durante dicho intervalo, la frecuen-

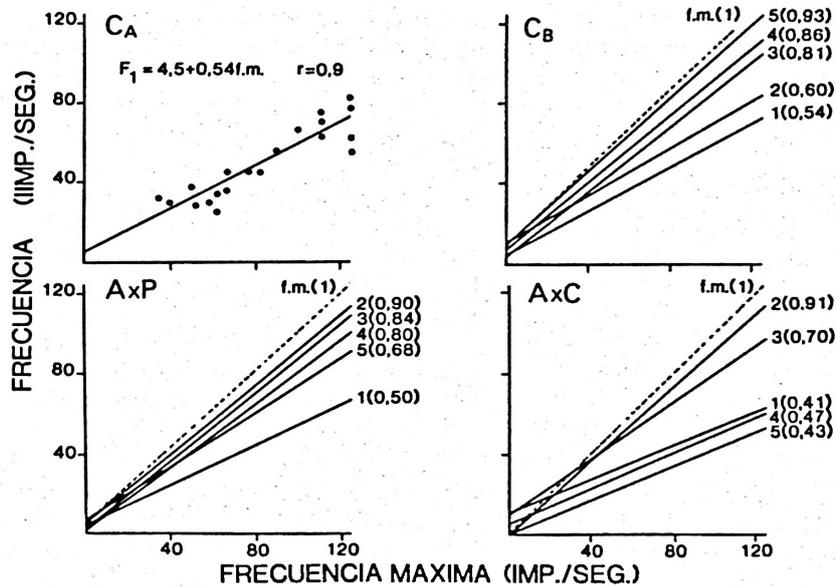


Fig. 3. Relaciones lineales entre la frecuencia instantánea (de los cinco primeros intervalos interespigas) y la frecuencia máxima (f.m.) alcanzada por motoneuronas (Mns) controles y axotomizadas durante movimientos sacádicos.

CA) Representación de los valores observados en la relación del primer intervalo frente a f.m. en 20 movimientos diferentes. F_1 indica la ecuación de la recta esperada, extraída de los valores obtenidos, para una Mn control. r , indica el valor del coeficiente de correlación obtenido en la determinación de la recta. CB) Representación de las rectas esperadas para una Mn control, establecidas entre los cinco primeros intervalos (1, 2, 3, 4, 5) y f.m.; entre paréntesis se indican las pendientes de cada una de las rectas. AxP/C) Representaciones similares a las realizadas para las controles en Mns sometidas a axotomía periférica (P) y central (C), respectivamente. El valor de las pendientes aumentó progresivamente en las Mns controles hasta el quinto intervalo y disminuyó desde el segundo en las axotomizadas.

cia fue muy variable aumentando o disminuyendo en relación al segundo intervalo sin seguir un patrón definido. El valor de la media para los intervalos segundo y tercero fue similar al encontrado en las controles, aunque con tendencia a disminuir en el tercero.

Las relaciones lineales entre cada una de las frecuencias de los cinco primeros intervalos y la f.m. que se alcanzó en el movimiento se muestran en la figura 3 para cada uno de los supuestos experimentales. En 3 CA se presenta la ecuación lineal que define las frecuencias esperadas (F_1) para la Mn representada durante el primer intervalo. Los valores

del primer intervalo se tomaron de los 20 movimientos estudiados. La correlación fue de 0,9, lo que implica que en la consecución de su f.m. las Mns del nMOE siguen una estrategia marcada desde el primer intervalo. En 3 CB se muestran las relaciones lineales de los cinco primeros intervalos frente a la f.m. alcanzada durante cada movimiento sacádico. Las pendientes de estas rectas aumentaron gradualmente para cada uno de los intervalos (0,54; 0,60; 0,81; 0,86 y 0,93) siendo de 1, lógicamente frente a f.m. (línea de trazos en la figura). Hay que hacer notar la adición del valor umbral del intervalo de mayor frecuencia a

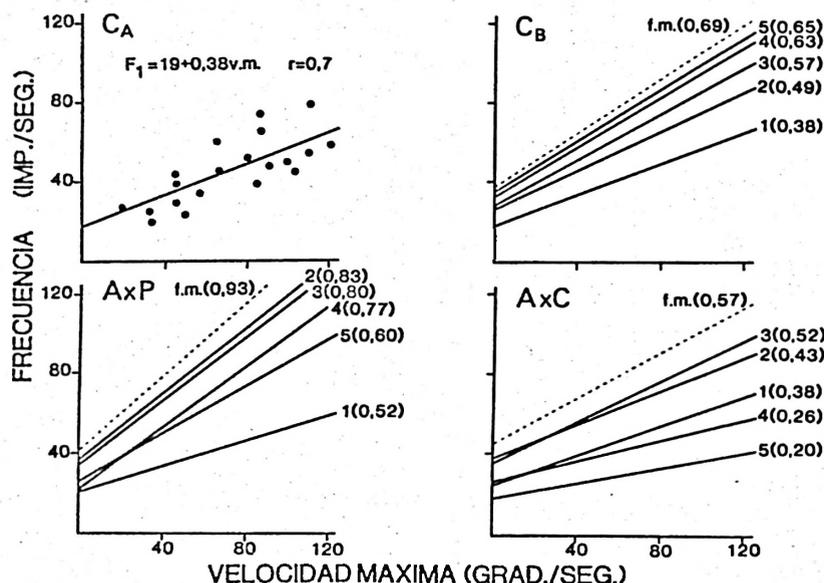


Fig. 4. Relaciones lineales entre la frecuencia instantánea (de los cinco primeros intervalos) de motoneuronas (Mns) controles y axotomizadas y la velocidad máxima (v.m.) que se alcanzó durante el movimiento sacádico.

CA) Representación de los valores observados en la relación del primer intervalo frente a v.m. en 20 movimientos diferentes. F_1 indica la ecuación de la recta esperada, extraída de los valores observados, para una Mn control. r , indica el valor del coeficiente de correlación obtenido en la determinación de la recta. CB) Representación de las rectas esperadas para una Mn control, establecidas entre los cinco primeros intervalos (1, 2, 3, 4, 5) y la frecuencia máxima (f.m.) y v.m. Los valores entre paréntesis indican las pendientes de cada una de las rectas. AxP/C) Representaciones similares a las realizadas para los controles en las Mns sometidas a axotomía periférica (P) y central (C), respectivamente. El valor de las pendientes aumentó progresivamente en las controles hasta el quinto intervalo y disminuyó desde el segundo en las axotomizadas. Igual sucedió con el valor de los umbrales.

la recta de f.m. para una mejor comprensión de la figura. Las Mns sometidas a axotomía periférica (fig. 3 AxP) mostraron el mismo fenómeno de predeterminación por el primer intervalo mediante una relación lineal, pero evidenciaron una lenta caída en las pendientes una vez rebasado el segundo intervalo (0,50; 0,90; 0,84; 0,80 y 0,68). Efectos similares pero mucho más pronunciados se obtuvieron cuando las Mns se sometieron a axotomía central (fig. 3 AxC), en este caso la pendiente disminuyó a la mitad desde el segundo al quinto intervalo (0,41; 0,91; 0,70; 0,47 y 0,43). El

coeficiente de correlación medio que se obtuvo entre las frecuencias de cada uno de los cinco primeros intervalos y la f.m. para los tres supuestos experimentales fue de 0,94.

Las relaciones lineales entre las frecuencias de los cinco primeros intervalos y la velocidad máxima (v.m.) que se alcanzó en el movimiento se muestran en la figura 4 en cada uno de los supuestos experimentales. En 4 CA se presenta la ecuación lineal de las frecuencias esperadas para el primer intervalo en una Mn control, así como los valores experimentales con los que se estableció la relación.

El coeficiente de correlación fue de 0,7. Esto implica que la consecución de la v.m. del movimiento estuvo determinada desde el primer intervalo. En 4 C_B se representan las relaciones lineales establecidas para una Mn control entre los cinco primeros intervalos (y la f.m.) con la v.m. del movimiento sacádico; las pendientes aumentan progresivamente. La v.m. ocular en los animales axotomizados se midió en el ojo contralateral, basándose en el hecho de que el sistema motor ocular es prácticamente simétrico (2). Las Mns lesionadas mostraron un decaimiento tanto del umbral como de las pendientes, tras el segundo intervalo. Este fenómeno fue más acentuado cuando la axotomía se realizó centralmente (fig. 4 AxP/C). El coeficiente de correlación medio entre las frecuencias de cada uno de los cinco primeros intervalos y la v.m. para los tres supuestos experimentales fue 0,69, lo que implica un peor ajuste de los intervalos con la v.m. con referencia a la f.m. Esto se debe a que la v.m. es la salida de toda la planta oculomotora, mientras que la f.m. representa la salida de la propia Mn analizada.

Discusión

Mediante la inyección intracelular de corriente se ha demostrado que la respuesta de las células nerviosas a pulsos transitorios depende de la intensidad y velocidad con la que se aplica dicha corriente (3). En el gato despierto, la evolución de la frecuencia instantánea de disparo en las Mns controles del nMOE presentó características similares a las descritas *in vitro* (3). La f.m. se obtuvo siempre en el cuarto o quinto intervalo; sin embargo, el tiempo invertido en conseguirla varió según los valores que tomó este parámetro. Las diferencias en el tiempo necesario para llegar a la f.m. se pueden explicar por un efecto transitorio de corriente, de tal modo que el in-

cremento de entradas sinápticas activadoras provocaría no sólo el aumento de la f.m. sino también el acortamiento del tiempo invertido en alcanzarla. Además, las características de la entrada de corriente que provocó cada f.m. estuvieron implícitas desde el primer intervalo. El hecho de que las relaciones lineales se mantuviesen entre los primeros intervalos y f.m. o v.m., tanto para las Mns controles como para las axotomizadas, se puede deber a que la cinética, aproximadamente exponencial (6), de entradas de postpotenciales excitadores no se modificasen por la axotomía. Esto implica que la axotomía puede provocar retirada de los botones sinápticos, pero no altera básicamente el mecanismo de despolarización graduada que realizan las neuronas premotoras sobre las Mns del nMOE. Estos resultados sugieren también que no se producen modificaciones funcionales en las neuronas premotoras tras la axotomía de neuronas blanco.

En animales anestesiados la axotomía produce diversas modificaciones electrofisiológicas que se explicaron por dos tipos de cambios: 1) en las entradas sinápticas; y 2) en las características eléctricas de la membrana plasmática. A continuación se discuten los resultados expuestos en este trabajo en base a ambas hipótesis, sin que hasta el momento existan argumentos suficientemente convincentes para inclinarse por ninguna de ellas. La frecuencia de disparo de las Mns depende de dos tipos de entradas sinápticas: entrada proporcional a la posición ocular (kE); y entrada proporcional a la velocidad ocular ($r\dot{E}$). La ecuación que define la actividad de la Mn en todo momento es: $F = F_0 + k \cdot E + r \cdot \dot{E}$. Donde F_0 es la frecuencia de disparo cuando el ojo está en el centro de la órbita, E indica la posición instantánea del ojo y \dot{E} la velocidad ocular; por último, k y r son constantes para cada Mn y proporcionales a la posición y a la velocidad ocular (11, 16). Según el modelo pro-

puesto por VAN GISBERGEN *et al.* (16) para el funcionamiento del nMOE, en la generación de movimientos sacádicos las Mns reciben inicialmente la señal procedente de las neuronas fásicas a la que posteriormente se adiciona la señal que proviene de las neuronas tónicas. Por otro lado, se ha demostrado la pérdida de la señal de posición en las Mns del nMOE axotomizadas (10), lo que puede indicar la retirada de la entrada sináptica tónica. Este fenómeno de retirada preferencial de determinadas entradas sinápticas excitadoras puede explicar el agotamiento prematuro observado en la frecuencia instantánea de las Mns lesionadas. El brote de actividad correspondiente a movimientos sacádicos comenzó a entrar bien, por eso la escala de valores que se obtuvieron hasta el tercer intervalo fue similar al de los controles; sin embargo, la pérdida de la señal de tipo tónico provocó la caída a partir del tercer intervalo, ya que no se sumó la despolarización correspondiente a la nueva posición ocular. De ser cierta esta hipótesis, la respuesta a la axotomía de las Mns oculares presenta tal grado de selectividad que no sólo discrimina entre entradas sinápticas cualitativamente distintas, activadoras o inhibitorias, sino, incluso, dentro de las primeras, entre señales de tipo fásico o tónico. En este fenómeno puede jugar un papel importante la localización en soma y/o dendritas de los botones sinápticos correspondientes, aunque hasta el momento no se puede establecer ninguna correlación morfofuncional con cierta base experimental (1, 10, 13, 14).

La segunda clase de argumento se basa en la disminución de la excitabilidad encontrada en las Mns del nMOE tras la axotomía (1). Esto implica que sólo entradas de gran frecuencia, como las descritas para las neuronas fásicas o de brote (16), pueden activar a las Mns axotomizadas. Esta hipótesis explica la ausencia del componente tónico en las Mns

lesionadas, así como el agotamiento prematuro. Este argumento viene apoyado, además de por los resultados ya publicados (1), por los resultados obtenidos en el presente trabajo: 1) el incremento de los umbrales en las relaciones intervalos interespigas y v.m. en las Mns controles se puede explicar por la entrada del componente de posición simultáneamente con el de velocidad. Este fenómeno también se observó en las Mns axotomizadas hasta el tercer intervalo, lo que indica que la señal de posición estuvo presente, al menos al inicio del movimiento; su desaparición posterior vendría dada por el mayor umbral de las Mns axotomizadas; y 2) las Mns axotomizadas mantuvieron la actividad tónica para posiciones oculares muy excéntricas en la dirección de activación, si bien en una frecuencia menor que la presente en las Mns controles. Ambos resultados reflejan pues la presencia de despolarizaciones inducidas por las neuronas tónicas de la formación reticular, si bien su manifestación es menos evidente en las Mns lesionadas ya que tienen que superar un umbral mayor.

Resumen

Se estudia en el gato despierto la frecuencia de disparo instantánea de las motoneuronas (Mns) del núcleo motor ocular externo durante movimientos sacádicos. La cinética de disparo en las Mns controles durante dichos movimientos muestra un incremento paulatino de la frecuencia hasta el cuarto o quinto intervalo interespiga en los que se alcanza la frecuencia máxima. En las Mns axotomizadas la frecuencia de disparo sólo aumenta hasta el segundo o tercer intervalo, disminuyendo rápidamente a partir de éstos. Se establecen relaciones lineales, de alto índice de correlación, entre la frecuencia instantánea de los cinco primeros intervalos y la frecuencia máxima o la velocidad máxima del movimiento ocular, tanto en Mns controles como axotomizadas. Estas últimas muestran un agotamiento prematuro en dichas relaciones lineales por la disminución

de las pendientes a partir del tercer intervalo. Se discuten las implicaciones funcionales de los resultados obtenidos con respecto a las hipótesis actuales del efecto de la axotomía sobre las neuronas motoras oculares.

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, Berlin, 1981, pp. 51-63.
2. BAKER, R. y SPENCER, F.: *Jap. Soc. of EEG and EMG*, **7**, 49-59, 1981.
3. BALDISSERA, F., CAMPADELLI, P. y PICCINELLI, L.: *Exp. Brain Res.*, **48**, 455-458, 1982.
4. GUSTAFSSON, B.: *J. Physiol.*, **293**, 197-215, 1979.
5. HEYER, C. B. y LLINAS, R.: *J. Neurophysiol.*, **1**, 480-488, 1977.
6. JIMÉNEZ-RIDRUEJO, G., GÓMEZ, C., DELGADO-GARCÍA, J. M. y DEL POZO, F.: En «Actas del II Simposium de Ingeniería Biomédica», Madrid, 1983, pp. 54-60.
7. KUNO, M. y LLINAS, R.: *J. Physiol.*, **210**, 807-821, 1970.
8. KUNO, M. y LLINAS, R.: *J. Physiol.*, **210**, 823-838, 1970.
9. KUWADA, J. Y. y WINE, J. J.: *J. Physiol.*, **317**, 435-461, 1981.
10. RIBAS, J., SERRA, R. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **38**, 303-310, 1982.
11. ROBINSON, D. A.: *Ann. Rev. Neurosci.*, **4**, 463-503, 1981.
12. SELZER, M. E.: En «The Physiology of Peripheral Nerve Disease» (A. J. Sumner, ed.), W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1980, pp. 358-431.
13. SPENCER, R. F. y STERLING, P.: *J. Comp. Neurol.*, **176**, 65-86, 1977.
14. SERRA, R., RIBAS, J. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **38**, 295-302, 1982.
15. TAKATA, M. y NAGAHAMA, T.: *Neuroscience*, **10**, 23-29, 1983.
16. VAN GISBERGEN, J. A. M., ROBINSON, D. A. y GIELEN, S.: *J. Neurophysiol.*, **45**, 417-442, 1981.

