

Electrofisiología de la corteza telencefálica de reptiles (*Lacerta galloti*); EEG y potenciales evocados

J. González y R. V. Rial

Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Ciencias
Universidad de La Laguna
Tenerife (Islas Canarias, Spain)

(Recibido el 29 de abril de 1976)

J. GONZALEZ and R. V. RIAL. *Electrophysiology of the Telencephalic Cortex in Reptiles* (*Lacerta galloti*); *EEG and Evoked Potentials*. Rev. esp. Fisiol., 33, 239-248. 1977.

EEG recordings were made on the telencephalic cortex of the saurius *Lacerta galloti* by means of chronically and acute implanted electrodes. In acute experiment cases, the animal was curarized and given artificial respiration. In chronic experiment cases the recordings were made extradurally, epicortically and subcortically. Evoked potentials were obtained by optical, acoustic and somatosensory stimulations. The results show two main aspects: 1. High amplitude slow waves. 2. Very abundant spindles of high frequency. They also show clear responses to sensorial stimuli but without precise topographical localization.

Los mamíferos analizan las principales modalidades sensoriales en su corteza telencefálica gracias a la neoformación de líneas talamocorticales perfectamente desarrolladas.

El estudio de la evolución de estas líneas ha tomado como centro de interés el grupo de los reptiles, en cuyo telencéfalo HUNSAKER y LANSING (5), PARSONS y HUGGINS (8), y FLANIGAN *et al.* (3) han estudiado el EEG, así como la existencia de proyecciones motoras y sensoriales por medio de estimulaciones adecuadas. No se ha podido demostrar ninguna clase de corteza motora en los reptiles, pero en cambio se han hallado abundantes proyec-

ciones sensoriales (6) que al parecer son de tipo no específico. Todos los hechos inducen a pensar que la corteza de los reptiles actuales no puede ser homologada con el neocortex de los mamíferos a pesar de la existencia de indudables relaciones cortico-talámicas.

A la vista de esta situación resalta, de una parte, el pequeño número de estudios realizados sobre este grupo animal; por otra, los estudios realizados presentan grandes discrepancias que impiden incluir los resultados en una sistematización coherente. Por ello, en el trabajo presentado, se pretende aumentar el número de hechos conocidos empleando una especie

no utilizada anteriormente, y a la vez confrontar distintas técnicas que permitan comprender algunas de las discrepancias señaladas.

Material y métodos

Animales. — Se han utilizado ejemplares del saurio *Lacerta galloti*, de medidas cabeza-cloaca comprendidas entre 13 y 17 cm, de 25 a 55 g de peso y sexo no diferenciado. Capturados de su medio natural, se han mantenido en terrarios sometidos a un fotoperíodo artificial de 12 horas, con temperaturas que han variado entre 17° (noche) y 25° (día). En todo momento tuvieron libre acceso a comida y bebida.

Se han obtenido registros de los siguientes grupos:

a) 5 animales con electrodo crónico extradural; b) 40 animales con electrodos crónicos situados en la superficie de la corteza telencefálica en las zonas dorsal y medial; c) 5 animales con electrodos múltiples implantados crónicamente a diferentes alturas en el espesor de la corteza telencefálica, y d) 7 animales en experimentos de registro agudo en los que un electrodo registró sistemáticamente la superficie de la corteza telencefálica.

En la nomenclatura de las zonas de la corteza telencefálica de los reptiles ha sido utilizado el criterio topográfico (1, 2, 4, 7, 10).

Procedimiento quirúrgico. — En todas las implantaciones crónicas se ha utilizado como anestésico el pentobarbital sódico (35 mg/kg).

Como electrodo de referencia se ha utilizado un asa de acero inoxidable de 0,2 mm ligada a un hueso temporal de forma que hiciese contacto con los músculos del cuello. En los experimentos extradurales se utilizó como electrodo activo un alambre de plata situado sobre la dura en la línea interhemisférica después de perforar los huesos frontoparietales.

En los animales de implantación cróni-

ca sobre la superficie cortical se utilizaron electrodos de acero inoxidable (150 μ) aislados con teflón. Sólo quedó sin aislar el extremo cortado del alambre en contacto con el tejido nervioso, ya que en este animal el espesor total de la corteza no sobrepasa las 500 μ . Los electrodos se situaron sobre las cortezas dorsal y medial (en la mayoría de los casos regiones M₁, M₂, D₁ y D₂). Los electrodos, soldados a un microconector, fueron fijados al cráneo con cemento dental acrílico.

En los animales de electrodo intracortical la implantación se llevó a cabo estereotáxicamente, por comparación con cráneos de animales del mismo tamaño (12) y después de finalizado el experimento se les extrajo el cerebro por ruptura de la caja craneana después de perfusión cardíaca con líquido fijador. Los cerebros fueron montados en parafina, seccionados en cortes de 50 μ y teñidos con *Luxol fast blue* (Kluver Barrera) para conocer la situación del extremo del electrodo.

En los experimentos de registro agudo se empleó anestesia por inhalación de éter para abrir un amplio orificio en el cráneo del animal que expusiera todo el telencéfalo. La duramadre fue retirada y, para impedir la desecación, se recubrió todo con una capa de gel de agar. El animal fue curarizado (0,4-0,6 mg de tubocurarina), para evitar artefactos por movimientos del animal, y se suministró respiración forzada 30 veces por minuto. Se utilizaron electrodos de las mismas características que en los animales crónicos, pero en esta preparación el electrodo de registro se fue moviendo en pasos de 0,5 mm hasta cubrir toda la superficie telencefálica.

Registro. — Se empleó un fisiógrafo Nihon Kohden RM-85 y un electroencefalógrafo Alvar de 8 canales, casi siempre en registros monopolares, aunque en los animales portadores de más de un electrodo también se hicieron registros bipolares.

Se concedió como mínimo una semana para recuperación postoperatoria a todos los animales de implantación crónica. En éstos, todos los registros fueron realizados con animal libre, sin más restricciones que las impuestas por el cable de conexión y las dimensiones del terrario.

Durante los registros se utilizaron filtros recortadores para frecuencias superiores a los 30 c/s y constantes de tiempo de 0,3 s.

Como fuente de estímulos ópticos y acústicos se utilizó un estimulador Soneclat Alvar que suministra destellos luminosos y ruidos de frecuencia e intensidad variables. Como estimulación somatosensorial se empleó una varilla de cristal con la cual se hacía contacto en diversas regiones del cuerpo, descartándose los registros obtenidos en los casos en que, como resultado de la estimulación, el animal se movía activa o pasivamente.

Resultados

Registros de actividad extradural. — Se perciben ondas lentas, asincrónicas y de alto voltaje (fig. 1). Sobre esta señal se superpone otra de menor amplitud y mayor frecuencia (15 c/s) con bastante regularidad. Esta morfología se modifica algo según el estado de vigilancia del animal. Cuando éste se encuentra en quietud corporal y ojos cerrados después de una prolongada ausencia de estímulos de todo tipo se encuentran registros cualitativamente semejantes pero cuantitativamente disminuidos.

Se han obtenido fácilmente respuestas evocadas a los estímulos ópticos, acústicos y somáticos; su morfología consiste en un cambio relativamente lento y de carácter positivo. Las respuestas son semejantes para todos los estímulos, pero en los ópticos presentan generalmente una agudeza algo mayor.

Registros obtenidos sobre la superficie de la corteza en animales con electrodo

implantado crónicamente. — Se señalan de forma más acusada las características que destacaban en los registros extradurales (figura 2). Son igualmente visibles las ondas lentas, pero sobre todo es llamativa la organización de las frecuencias elevadas (15-22 c/s) en forma de husos ocasionales, presentándose a veces con mucha

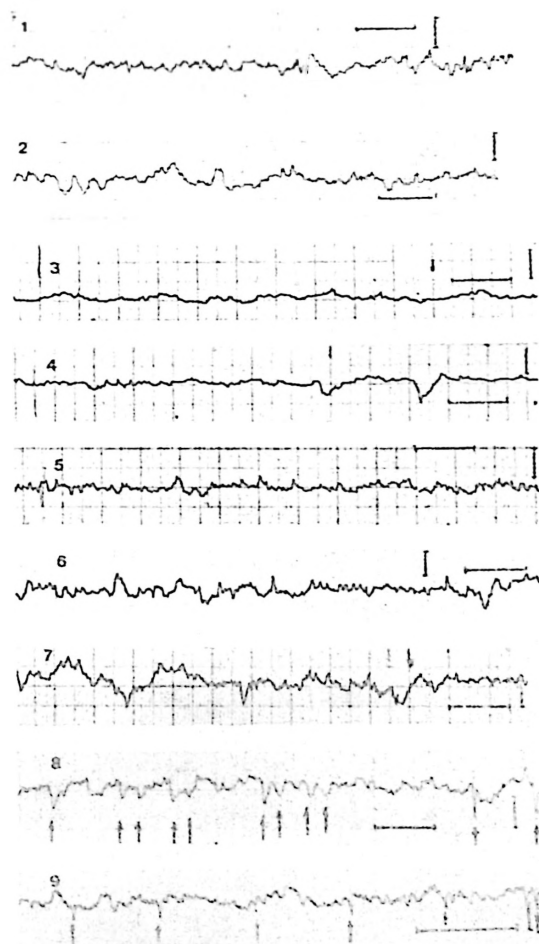


Fig. 1. EEG obtenido extraduralmente y en implantación crónica.

Registro n.º 1 y 2: Actividad espontánea. N.ºs 3 y 4: Quietud corporal y ojos cerrados. N.ºs 5 y 6: Estados crecientes de vigilia. N.º 7: Excitación. N.º 8: Estimulación acústica. N.º 9: Estimulación óptica. Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

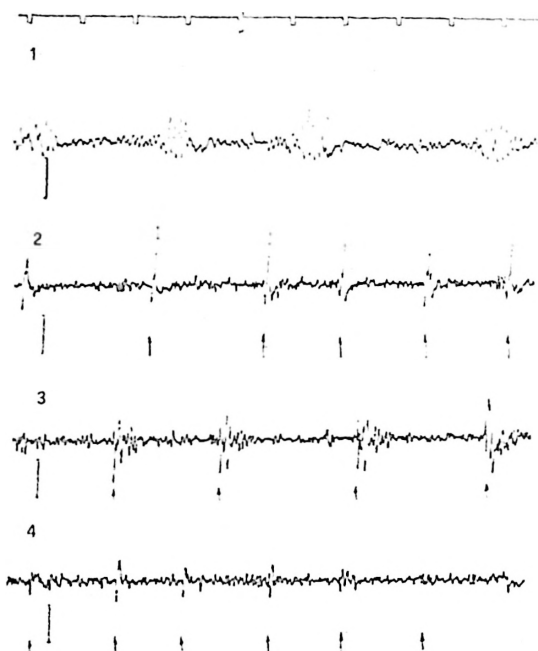


Fig. 2. EEG obtenido epicorticalmente y en implantación crónica.

Registro n.º 1: Actividad espontánea. N.º 2: Estimulación óptica. N.º 3: Estimulación acústica. N.º 4: Estimulación somatosensorial. Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

regularidad, repetidos a intervalos variables entre 1 y 3 segundos; en otras ocasiones son esporádicos, pero incluso cuando no se manifiestan como tales, se encuentran presentes permanentemente los componentes de elevada frecuencia.

El enriquecimiento del registro se manifiesta especialmente en las respuestas ante los estímulos sensoriales de todo tipo, apreciándose su compleja morfología. Las respuestas a un destello óptico presentan 3 fases: Una punta negativa muy rápida y de baja amplitud a la que sigue una onda de mayor duración y polaridad positiva, y algunas oscilaciones muy rápidas de potencial que se encuentran superpuestas a una onda lenta de valor dominante negativo. Este tercer componente, en muchos casos, llega a articularse en forma idéntica a la de un típico huso.

Las respuestas a estímulos táctiles y acústicos presentan caracteres semejantes, aunque quizás no se pueden definir con la misma claridad ya que los dos primeros componentes pierden la especial individualidad con que se manifestaban ante los estímulos ópticos, para dejar convertida la respuesta en una serie de oscilaciones de bastante homogeneidad.

Estudio del origen de los husos de actividad Beta. — Se implantaron en 7 animales un total de 8 electrodos, descartándose 2 animales porque al analizar histológicamente la situación de los electrodos se demostró error en alguna de las localizaciones. Se puede ver el registro obtenido de uno de los animales que presentaron localización correcta en sus electrodos (fig. 3), la correspondencia entre los canales y los electrodos por ordenación numérica de 1 a 8 es la siguiente: Corteza medial derecha profunda; corteza medial izquierda profunda; corteza dorsal izquierda superficial; corteza dorsal derecha profunda; corteza dorsal izquierda profunda; corteza medial izquierda superficial; corteza medial derecha superficial, y corteza dorsal derecha superficial.

Los términos superficial y profunda significan que el extremo del electrodo se encontró en las capas plexiformes externa e interna respectivamente (la distancia entre ambas capas es de unas 200-300 μ). En cada hemisferio quedaron cuatro electrodos distribuidos simétricamente.

Los canales 1, 4, 7 y 8 representan registros correspondientes al hemisferio derecho, mientras que los cuatro restantes corresponden al izquierdo. Estos últimos, en general, tienen mayor amplitud que sus simétricos, y de ello puede deducirse una leve dominancia del hemisferio izquierdo. Los canales 1, 2, 6 y 7 corresponden a electrodos mediales, mientras que los otros cuatro son dorsales. Resulta bastante clara la mayor abundancia de husos en estos últimos. En tercer lugar, los canales 1, 2, 4 y 5 representan loca-

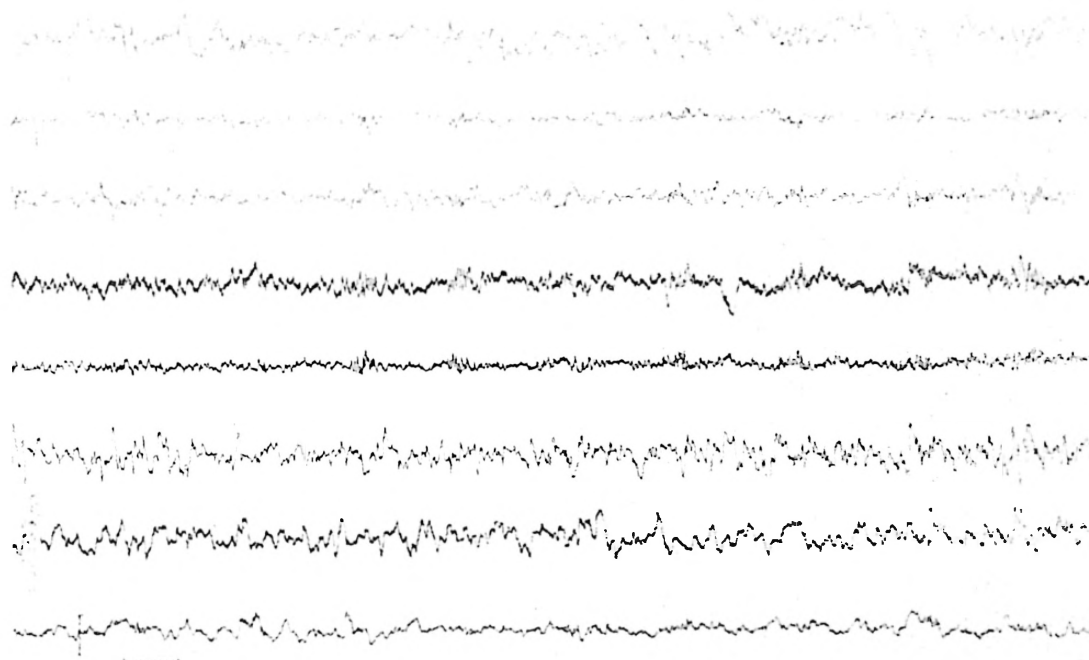


Fig. 3. EEG obtenido de animales de implantación múltiple. Explicación en el texto. Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

lizaciones profundas, y se puede comprobar que los husos son más claros y de mayor amplitud que en los correspondientes a los electrodos superficiales.

Estos resultados, confirmados en los otros cuatro ejemplares y también en el análisis de los registros bipolares, permiten concluir la existencia de una leve asimetría funcional con dominancia del hemisferio izquierdo, y asimismo, que los husos, aunque extendidos a toda la corteza, son más visibles en las capas profundas de la corteza dorsal.

Registros obtenidos sobre los animales en experimento agudo. — Se intentó especialmente buscar las zonas de proyección sensorial visual, acústica y somática sobre el telencéfalo. Como se señaló al explicar los métodos, el electrodo explorador se movió en pasos de 0,5 mm hasta cu-

brir la totalidad del telencéfalo. Sin embargo, en los registros que se presentan (figura 4) sólo se han señalado siete puntos con su localización aproximada sobre los hemisferios. Los puntos 1, 2 y 3 corresponden a la corteza medial, los 4, y 6 a la dorsal y el número 7 a la lateral.

La actividad espontánea (fig. 5) mostró las características ya conocidas: ondas lentas e irregulares, junto con actividad rápida de 15-22 c/s que en algunas ocasiones se organiza en husos. Aunque aparecen algunas diferencias entre las distintas localizaciones, y también entre distintos experimentos, no se han podido observar en forma firme y clara, ya que hubo bastantes variaciones entre individuos e incluso a lo largo del experimento que, probablemente, dependen de su cronología.

Al estimular ópticamente (fig. 6) se ob-

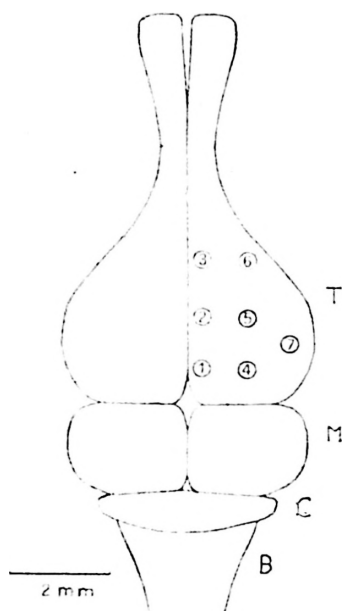


Fig. 4. Esquema del cerebro de un reptil con indicación de los principales puntos de registro.

T: Telencéfalo; M: Mesencéfalo; C: Cerebelo; B: Bulbo raquídeo.

tuvieron respuestas claras en los puntos 1, 4, 5, 6 y 7, aunque con algunas variaciones entre uno y otro punto. En los puntos 4 y, sobre todo, en el 5 se observa la respuesta completa con los tres componentes descritos en el experimento de implantación crónica: una primera fase muy rápida de pequeña amplitud y polaridad negativa, una segunda positiva de gran amplitud y duración y la tercera una oscilación superpuesta a una onda lenta negativa. En el punto n.º 1 sólo se manifiesta una onda relativamente lenta y positiva que es fácilmente asimilable al segundo de los componentes del esquema típico. En el punto n.º 6 la señal casi ha perdido sus componentes primero y segundo; en cambio el tercero está acentuado hasta convertirse en uno de los típicos husos mencionados tantas veces en los registros de actividad espontánea.

Por último, en el punto 7 vuelve a ver-

se una morfología casi completa en la que el primer componente está acentuado sobre los dos restantes.

Los estímulos acústicos (fig. 7) no dan resultados tan claros como los precedentes. Ha sido difícil ver respuestas claras ante la estimulación repetida, ya que sólo se responde a los primeros estímulos de la serie, tras los que se alcanza rápidamente una especie de habituación. Por ello se hace difícil hablar de una representación auditiva cortical, aunque no cabe duda de su existencia, ocupando una zona que prácticamente coincide con la de la representación visual. Su morfología se

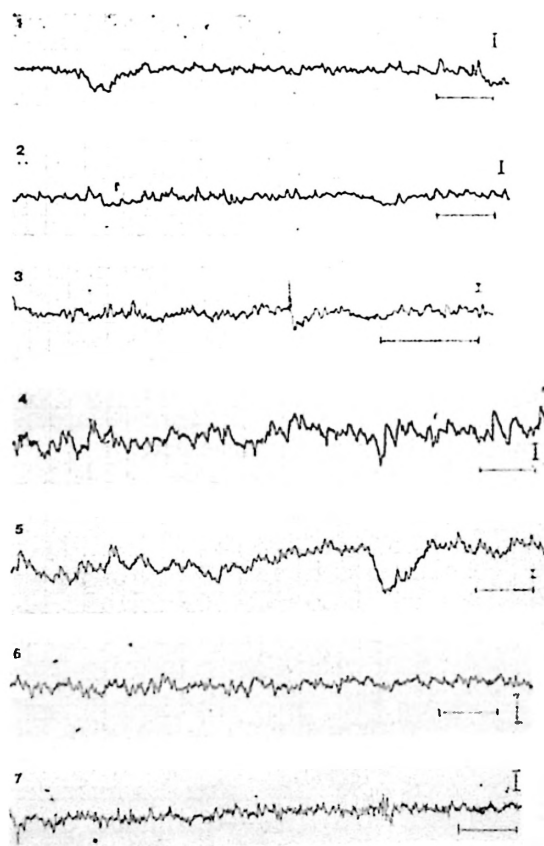


Fig. 5. EEG obtenido de animales en experimento agudo.

Actividad espontánea. Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

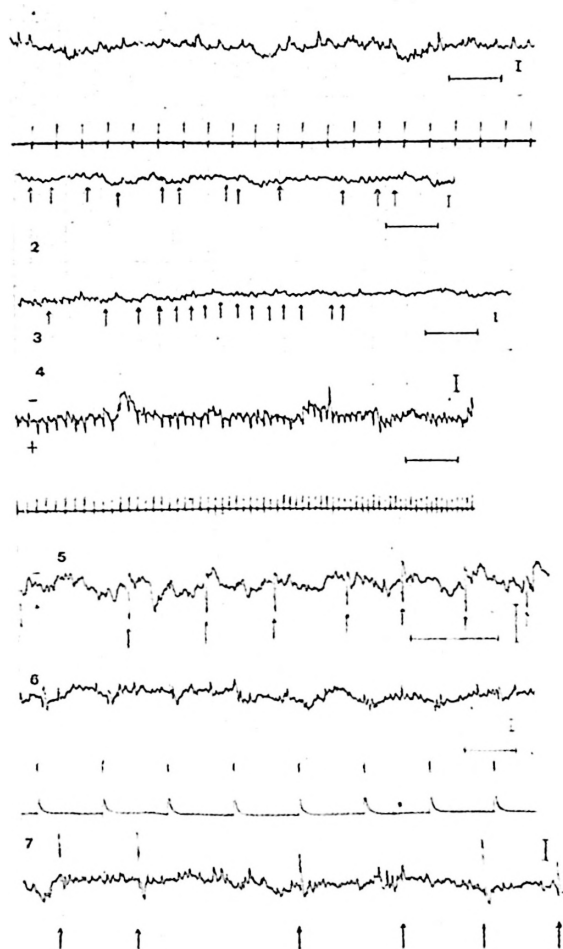


Fig. 6. EEG obtenido de animales en experimento agudo.

Potenciales evocados por estímulos ópticos.
Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

ha mostrado igualmente muy atípica, por lo que no se puede, en base a este estudio, aventurar una descripción.

Y por último, al estimular somáticamente (fig. 8) se han obtenido respuestas claras en localización y constancia, con zonas sensibles coincidentes con las mismas que lo fueron a los estímulos ópticos y acústicos. La forma de estas respuestas es muy constante: en los puntos 1, 4, 5 y 6 una punta de 50 a 100 μ V de polari-

dad positiva. En ocasiones, ante un estímulo se obtienen varias respuestas idénticas que probablemente son ocasionadas por la dificultad del control en la duración del estímulo. No se ha encontrado ninguna variación en la respuesta al variar el punto de aplicación del estímulo, es decir, se obtiene la misma respuesta al estimular en la cola, una pata o la cabeza, aunque probablemente existirán diferencias en el umbral sensorial necesario para desencadenar la respuesta.

En el punto n.º 7 la respuesta evocada ha sido realmente muy diferente, y toma la forma de una deflexión negativa de gran duración (casi un segundo). Se hace difícil asimilar esta respuesta con cualquier tipo de potencial evocado.

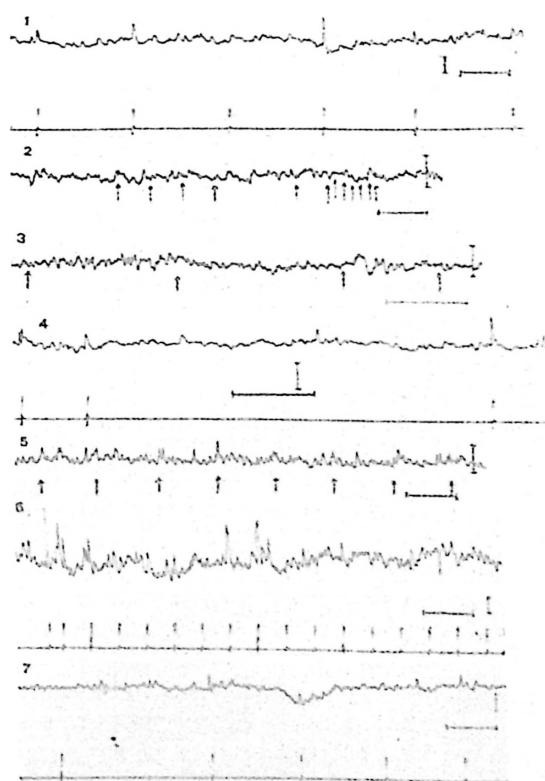


Fig. 7. EEG obtenido de animales en experimento agudo.

Potenciales evocados por estímulos acústicos.
Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

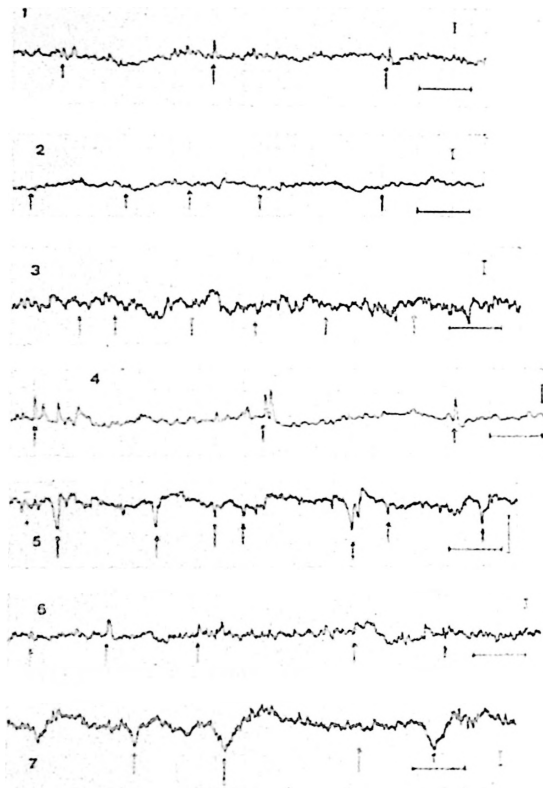


Fig. 8. EEG obtenido de animales en experimento agudo.

Potenciales evocados por estimulación somática. Señales de calibración: 50 μ V y 1 s.

Discusión

La diferencia fundamental encontrada entre la actividad extradural y la cortical e intracortical reside en la falta de representación de las frecuencias superiores en los registros extradurales. Esto concuerda con lo descrito por PFURSTCHER y COOPER (9), quienes encuentran que mientras en el EEG humano registrado subduralmente las frecuencias superiores a 15 c/s son dominantes al registrar sobre el cuero cabelludo sólo se manifiesta una parte de estas frecuencias, ya que dominan los componentes más lentos. Este fenómeno lo atribuyen a que la actividad registrada en el exterior del encéfalo es

una media ponderada de la actividad cortical de las zonas subyacentes, y en ella sólo se manifestarían potenciales originados en zonas suficientemente extensas. Esto sugiere que los campos corticales en los que la actividad rápida se manifiesta sincrónicamente son de muy pequeño tamaño en el animal estudiado en este trabajo, lo que se confirma en los registros realizados sobre animales portadores de electrodos múltiples con separación entre las puntas de dos electrodos menor, en alguna ocasión, a 0.3 mm.

El hecho de que las zonas profundas de la corteza dorsal manifiesten mayor actividad de tipo Beta sugiere que algún tipo neuronal específico de esta zona debe ser el principal responsable de tal actividad. Según REGIDOR (11) en la zona plexiforme interna de la corteza dorsal existen dos tipos neuronales específicos (neuronas tipo dC y dD), sugiriendo que los árboles dendríticos de estas neuronas, junto con las dendritas inferiores de las neuronas bipiramidales de la capa molecular pueden ser los responsables de la actividad de alta frecuencia.

Los husos de tipo Beta que se manifiestan en la corteza dorsal de tortuga son según SERVIT y STREJCKOVÁ (13) indicadores de las relaciones existentes entre tálamo y corteza de la tortuga. Dada la gran similitud en la configuración de estos husos aquí descritos se pueden inferir relaciones similares en los saurios. El análisis de las respuestas evocadas reviste el máximo interés, ya que su configuración suministra datos sobre la relación cortico-talámica. Y, de esta forma, al descomponer un potencial evocado en sus fases se pueden aproximar las posibles vías de conducción desde el órgano sensorial hasta el lugar donde se toma el registro. Por ello, se considera que la corteza dorsal es una zona de proyecciones sensoriales de un sistema no específico, de acuerdo con KRUGER y BERKOWITZ (6). De los tres componentes del potencial evocado, el primero y más rápido es indicador de una

vía aferente de mínimo recorrido; el segundo, por su mayor latencia, amplitud y duración, indica una vía de mayor longitud y también mayor desarrollo. Por último, el tercero por su morfología polifásica sugiere la puesta en marcha de un sistema reverberante. Este sistema es muy fácil que coincida con el que organiza los husos de actividad Beta, dado que en numerosas ocasiones el tercer componente es indistinguible de un huso; por otra parte, es fácil obtener estos husos por medio de estímulos sensoriales y por ello, la hipótesis propuesta tiene una base suficientemente amplia.

Respecto a los potenciales evocados por estimulación sensorial, cabe señalar que de las modalidades sensoriales ensayadas la mejor representada es la visual, dato concordante con la biología y etología de la *Lacerta galloti*, animal diurno de vida activa y con abundantes señales de comunicación social dibujadas en forma de manchas coloreadas en distintos lugares de su cuerpo.

El EEG ha sido estudiado en animales libres y también en otros fuertemente restringidos (curare, respiración forzada). Obviamente la situación en estos últimos dista mucho de ser normal, ya que tanto el curare como la profundidad de la oxigenación modifican seriamente la actividad nerviosa. Por ello, el valor del EEG y los potenciales evocados en animales agudos debe ser escrupulosamente discutido frente a los hallados en situaciones más normales. Con respecto al EEG hay que señalar diferencias entre distintos experimentos que sin duda deben ser atribuidas a los factores restrictivos señalados. Pero frente a los potenciales evocados la concordancia de resultados es notable, con lo que los dos experimentos refuerzan su propio valor.

Las diferencias halladas en las amplitudes de los registros obtenidos en los dos hemisferios han sido confirmadas por M. TRUJILLO (14), quien ha hallado dife-

rencias significativas en el número de neuronas de los dos hemisferios, que, en la mayoría de los casos, afirman la dominancia del hemisferio izquierdo.

Resumen

Se han realizado registros electroencefalográficos del saurio *Lacerta galloti* por medio de electrodos implantados crónicamente y también por registros agudos sobre la superficie cortical con animal curarizado y con ventilación forzada. En los registros crónicos se han empleado electrodos extradurales, corticales y subcorticales. Se han obtenido potenciales evocados a estímulos ópticos, acústicos y somatosensoriales. Como resultado se señalan dos aspectos principales en el EEG: ondas lentas de gran amplitud y husos de alta frecuencia muy abundantes.

También hay claras respuestas a los estímulos sensoriales que no presentan localizaciones topográficas precisas.

Bibliografía

1. BECKERS, H. J. A., PLATEL, R. y NIEUWENHUYIS, H. R.: *Acta Morphol. Neerl. Scand.*, 9, 337-364, 1972.
2. EBBESON, S. O. E. y VONEIDA, T. S.: *Brain Behav. Evol.*, 2, 431-466, 1969.
3. FLANIGAN, W. F., JR., WILCOX, R. H. y REICHTSCHAFFEN, A.: *EEG Clin. Neurophysiol.*, 34, 521-538, 1973.
4. GOLDBY, F. y GAMBLE, H. J.: *Biol. Rev.*, 32, 383-420, 1957.
5. HUNSAKER, D. y LANSING, R. W.: *J. Exp. Zool.*, 149, 21-32, 1962.
6. KRUGER, L. y BERKOWITZ, E. C.: *J. Comp. Neurol.*, 115, 125-142, 1960.
7. MALAWNY, A., LÓPEZ, C. y MARÍN, F.: *Trab. Inst. Cajal Inv. Biol.*, 64, 125-158, 1972.
8. PARSONS, L. C. y HUGGINS, S. E.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 119, 397-400, 1965.
9. PFURTSCHELLER, G. y COOPER, R.: *EEG Clin. Neurophys.*, 38, 93-96, 1975.

10. PLATEL, R.: *J. f. Hirnforsch.*, **11**, 31-66, 1969.
11. REGIDOR, J.: Tesis Doctoral. Fac. Ciencias, La Laguna, 1976.
12. RIAL, R. V.: *II Bienal R. Soc. Esp. H. Nat.*, Tenerife, 1975. (Sec. Zool. Vert.) N.º 45.
13. SERVIT, Z. y STREJCKOVÁ, A.: *Exp. Neurol.*, **35**, 50-60, 1972.
14. TRUJILLO, J. M.: Tesis Doctoral, Fac. Ciencias, La Laguna, 1976.