

R-16253



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

6

159

25 NOV. 1997

Laboratorio de Neurociencia
 Departamento de Fisiología y
 Biología Animal
 Universidad de Sevilla
 Sevilla (España)

Otolaryngology Department
 Washington University
 School of Medicine
 San Luis, Missouri (EEUU)

1997

Sevilla

El Jefe del Negociado de Tesis,

Alfonso de la Torre

TD/224

Organización de las entradas vestibulares al grupo Y dorsal de los núcleos vestibulares

TESIS DOCTORAL

Pablo Miguel Blázquez Gámez

Dirigida por: Dr. Jose María Delgado García
 Dr. Stephen M. Highstein

T.D. 391

Doy mi autorización a la Secretaría del Departamento de Fisiología y Biología Animal para que mi Tesis Doctoral titulada "ORGANIZACION DE LAS ENTRADAS VESTIBULARES A LA PERCIEN DORSAL DEL NUCLEO" sea consultada según la/s modalidad/es que indico:

- Consulta en Secretaría
- Préstamo
- Reproducción Parcial
- Reproducción Total
- Ningún tipo de consulta sin autorización expresa

¿Que tipo de usuarios?

- Doctores
- Doctorandos
- Estudiantes
- Cualquier Otro

OBSERVACIONES: _____

Sevilla, 12 de JUNIO de 1.99 8

Fdo.: _____

Marcar con una "X" las modalidades a que accede.

PABLO M. BLÁZQUEZ

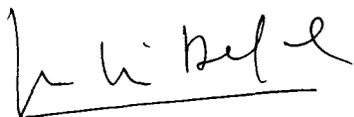
Don José María Delgado García, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Sevilla y Mr. Stephen M. Highstein, Profesor del Departamento de Otolaringología, de la Washington University School of Medicine, en San Luis, Missouri, Estados Unidos,

Certifican

Que D. Pablo Miguel Blázquez Gámez, Licenciado en Ciencias Biológicas, ha realizado bajo nuestra dirección y supervisión en el Laboratorio de Neurociencia de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla y en el Departamento de Otolaringología de la Facultad de Medicina de la Washington University, el trabajo titulado "Organización de las entradas vestibulares al grupo Y dorsal de los núcleos vestibulares". El presente trabajo cumple, a nuestro juicio, con los requisitos necesarios para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.

Sevilla, 16 de Octubre de 1997

San Luis, 16/10/1997



Fdo: José M. Delgado García



Fdo: Stephen M. Highstein

ACKNOWLEDGMENTS

I wish to thank deeply my mentor, Professor Jose María Delgado García, for giving me the scientific background and courage to pursue this work. I wish to thank deeply my mentor Professor Stephen M. Highstein, whose unconditional support and guidance throughout the past years made it possible to complete this work. To both I thank.

I also would like to thank Dr. Agissilaos M. Partsalis, for his positive input on the subject and his friendship. I am very thankful to Ms. Patricia A. Keller for her help in many ways, and to all the members of Dr. Highstein's lab.

Finally I wish to thank Dr. Angel Pastor, Dr. Rosa De la Cruz and Dr. Agnès Gruárt for their generosity helping me with the writing and presentation of this work.

A Jacqueline Walker
y mi familia.

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 EL SISTEMA OCULOMOTOR	2
1.1.1 Musculatura extraocular	2
1.1.2 Núcleos oculomotores	4
1.2 MOVIMIENTOS OCULARES	5
1.2.1 Reflejo vestíbulo-ocular	6
1.2.1.1 Aspectos generales del funcionamiento del reflejo vestíbulo-ocular	6
1.2.1.2 Alteraciones instantáneas del reflejo vestíbulo-ocular	9
1.2.2 Reflejo optocinético	9
1.2.3 Movimientos sacádicos o movimientos oculares rápidos	11
1.2.4 Reflejo de seguimiento visual	13
1.2.5 Movimientos de vergencia	15
1.3 EL SISTEMA VESTIBULAR. REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR	16
1.3.1 Canales semicirculares	16
1.3.2 Vías centrales de la información vestibular.....	21
1.3.2.1 Reflejo vestíbulo-ocular horizontal	21
1.3.2.1.1 Circuito de latencia corta del reflejo vestibular horizontal	22
1.3.2.1.2 Circuito de latencia larga del reflejo vestíbulo-ocular horizontal	23
1.3.2.2 Sustrato anatómico del reflejo vestíbulo-ocular vertical	24
1.3.2.2.1 Circuito de latencia corta del reflejo vestíbulo-ocular vertical	24
1.3.2.2.2 Circuito de latencia larga del reflejo vestíbulo-ocular vertical	26
1.4 COMPARACIÓN DEL REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR VERTICAL CON EL REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR HORIZONTAL.....	27
1.5 EL CEREBELO	28
1.5.1 Aspectos generales del cerebelo.....	28
1.5.2 Participación del cerebelo en el reflejo vestíbulo-ocular	30
1.5.2.1 Aferentes al cerebelo	30

1.5.2.2 Eferentes del cerebelo al tronco del encéfalo	31
1.5.3 Participación del cerebelo en el aprendizaje del reflejo vestibulo-ocular	33
1.6 IMPORTANCIA DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y EN LA EJECUCIÓN Y ADAPTACIÓN DEL REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR	34
1.6.1 En el animal no adaptado	34
1.6.2. En el animal adaptado.	40
2 MATERIALES Y MÉTODOS	43
2.1 PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS Y PREPARACIÓN DEL ANIMAL	44
2.1.1 Colocación del tornillo de sujeción e implante de la bobina ocular	45
2.1.2 Experimentos de estimulación en el nervio del VIII par craneal	48
2.1.2.1 Implantación de la cámara de registro	48
2.1.2.2 Implantación de los electrodos de estimulación en el oído interno	49
2.1.3 Experimentos de estimulación en la porción dorsal del núcleo Y	54
2.2 TÉCNICAS DE ESTIMULACIÓN VESTIBULAR Y OPTOCINÉTICA	55
2.2.1 Estimulación vestibular	55
2.2.2 Estimulación optocinética	58
2.2.3 Estimulación combinada visuo-vestibular	58
2.3 REGISTRO DE LOS MOVIMIENTOS OCULARES. CALIBRACIÓN	59
2.4 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA Y EL REGISTRO EXTRACELULAR	60
2.4.1 Electrodo y micromanipulador	60
2.4.2 Coordenadas estereotáxicas utilizadas durante el registro electrofisiológico	61
2.4.3 Localización del núcleo del motor ocular externo	62
2.4.4 Estimulación en el nervio del VIII par craneal y registro en la porción dorsal del núcleo Y	62

2.4.5 Estimulación en la porción dorsal del núcleo Y y registro en el núcleo vestibular superior.....	63
2.5 MÉTODOS UTILIZADOS EN LA OBTENCIÓN Y EL ANÁLISIS DE LOS DATOS	67
2.5.1 Análisis de la sensibilidad de la neurona a la posición ocular	68
2.5.2 Análisis de la sensibilidad neuronal a la velocidad ocular y a la velocidad de la mesa.....	69
2.5.3 Estudios de la latencia de activación sináptica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación del nervio vestibular	70
2.5.4 Análisis de la latencia de activación antidrómica en neuronas del núcleo vestibular superior tras estimulación de la porción dorsal del núcleo Y	72
2.6 HISTOLOGÍA.....	74
2.6.1 Inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y	74
2.6.2 Métodos de perfusión del animal	76
2.6.3 Corte y procesamiento del cerebro	77
2.6.3.1 Tinción de Nissl	77
2.6.3.2 Revelado de la biocitina	78
2.6.4 Análisis de los cortes histológicos	79
3 RESULTADOS	80
3.1 <u>EXPERIMENTO I. ESTUDIO DE LA LATENCIA DE ACTIVACIÓN SINÁPTICA DE LAS NEURONAS DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y TRAS LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL VIII PAR CRANEAL</u>	82
3.1.1 En el animal no adaptado	82
3.1.1.1 Identificación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y atendiendo a su respuesta electrofisiológica.....	82
3.1.1.1.1 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante movimientos oculares espontáneos	83

3.1.1.1.2 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación visual y/o vestibular.....	86
3.1.1.2 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular en el animal no adaptado.....	93
3.1.1.2.1 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral al lugar de registro.....	93
3.1.1.2.2 Características electrofisiológicas de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y atendiendo a la latencia de respuesta mostrada tras la estimulación del nervio vestibular homolateral.....	100
3.1.1.2.3 Estimulación del VIII par craneal contralateral al lugar de registro.....	100
3.1.2 En el animal adaptado a alta o baja ganancia del reflejo vestibulo-ocular.....	104
3.1.2.1 Respuesta electrofisiológica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras adaptación a alta o baja ganancia del reflejo.....	107
3.1.2.2 Respuesta a la estimulación del VIII par craneal homolateral al lugar de registro.....	112
3.1.2.3 Estimulación del nervio vestibular contralateral al lugar de registro.....	116
3.1.3 Análisis estadístico.....	116
3.2 <u>EXPERIMENTO II. HISTOLOGIA</u>	118
3.2.1 Inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y.....	118
3.2.2 Transporte anterógrado de la biocitina.....	120
3.2.3 Transporte retrógrado de la biocitina.....	120
3.2.3.1 Neuronas marcadas en la corteza cerebelosa (flóculo y paraflóculo ventral)	120
3.2.3.2 Neuronas marcadas con biocitina en el núcleo vestibular superior homolateral	121
3.3 <u>EXPERIMENTO III. RESPUESTA DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO VESTIBULAR SUPERIOR TRAS LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y</u>	127
3.3.1 Diseño experimental.....	127

3.3.2 Estudio del potencial de campo generado en el núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y	128
3.3.3 Características electrofisiológicas de las neuronas de la porción rostro-lateral del núcleo vestibular superior. Respuesta tras la estimulación de la porción dorsal del núcleo Y .	130
3.3.3.1 Características electrofisiológicas de las neuronas del núcleo vestibular superior no activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y	131
3.3.3.1.1 Respuesta durante movimientos oculares espontáneos	131
3.3.3.1.2 Respuesta en condiciones de estimulación visual o vestibular	133
3.3.3.2 Características electrofisiológicas de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y	135
3.3.3.2.1 Respuesta tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y	135
3.3.3.2.2 Respuesta durante movimientos oculares espontáneos	137
3.3.3.2.3 Respuesta en condiciones de estimulación visual o vestibular	137
3.3.3.3 Diferencias entre las neuronas con señal de velocidad de la cabeza activadas antidrómicamente y no activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y .	139
4 DISCUSIÓN.....	146
4.1 LATENCIA DE ACTIVACIÓN SINÁPTICA DE LAS NEURONAS DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y TRAS LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL VIII PAR CRANEAL	148
4.1.1 Conexión con el VIII par craneal homolateral	149
4.1.2 Conexión con el VIII par craneal contralateral	152
4.2 LOCALIZACIÓN DE LAS NEURONAS QUE PROPORCIONAN LA SEÑAL DE VELOCIDAD DE LA CABEZA A LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y.....	153
4.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS CÉLULAS DE PURKINJE QUE PROYECTAN AL GRUPO Y DORSAL .	156

4.4 EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y EN LA RESPUESTA DE LAS CÉLULAS DEL NÚCLEO VESTIBULAR SUPERIOR HOMOLATERAL	158
4.5 SEÑALES CONTENIDAS EN LAS NEURONAS DEL NÚCLEO VESTIBULAR SUPERIOR ACTIVADAS ANTIDRÓMICAMENTE DESDE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y	159
4.5.1 Respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y homolateral durante movimientos oculares espontáneos.....	159
4.5.2 Respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación vestibular	161
4.6 POSIBLE PAPEL DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO VESTIBULAR SUPERIOR ACTIVADAS ANTIDRÓMICAMENTE DESDE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y EN LA ADAPTACIÓN DEL REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR	162
4.6 MODELO DEL CIRCUITO NEURONAL IMPLICADO EN EL REFLEJO VESTÍBULO-OCULAR VERTICAL EN EL MONO ARDILLA	164
4.7 LATENCIA DE ACTIVACIÓN DE NEURONAS DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y DURANTE LA ESTIMULACIÓN DEL VIII PAR CRANEAL. EN EL ANIMAL ADAPTADO.....	168
5 CONCLUSIONES	171
6 BIBLIOGRAFÍA.....	175

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El sistema oculomotor

El sistema oculomotor es el responsable último de los movimientos oculares. Sus órganos efectores se organizan constituyendo la musculatura extraocular y son dirigidos directamente por los núcleos oculomotores situados en el sistema nervioso central. Estos núcleos oculomotores reciben información directa de núcleos premotores, también situados dentro del sistema nervioso central. La resultante de la información contenida en los núcleos premotores llega a las motoneuronas a través de contactos sinápticos y, finalmente, éstas proporcionan a la musculatura extraocular el nivel de contracción necesario para la ejecución precisa de los movimientos oculares.

1.1.1 Musculatura extraocular

El globo ocular se encuentra flotando dentro de su órbita y se mueve por la acción de tres pares de músculos antagonicos. La acción conjunta de estos tres pares de músculos proporciona al ojo una gran movilidad, necesaria para el procesamiento visuo-motor. Los seis músculos extraoculares, *recto externo*, *recto interno*, *recto superior*, *recto inferior*, *oblicuo superior* y *oblicuo inferior* se insertan en el hueso orbitario a través de sus prolongaciones tendinosas, las cuales forman el denominado anillo de Zinn.

La acción conjunta de los músculos *recto externo* y *recto interno* produce movimientos oculares en el plano horizontal del ojo (**figura 1**). Estos movimientos pueden ser adducentes, dirigidos hacia la nariz, o abducentes, dirigidos hacia la zona temporal. Los movimientos adducentes se producen por la contracción del músculo recto interno y por la distensión del

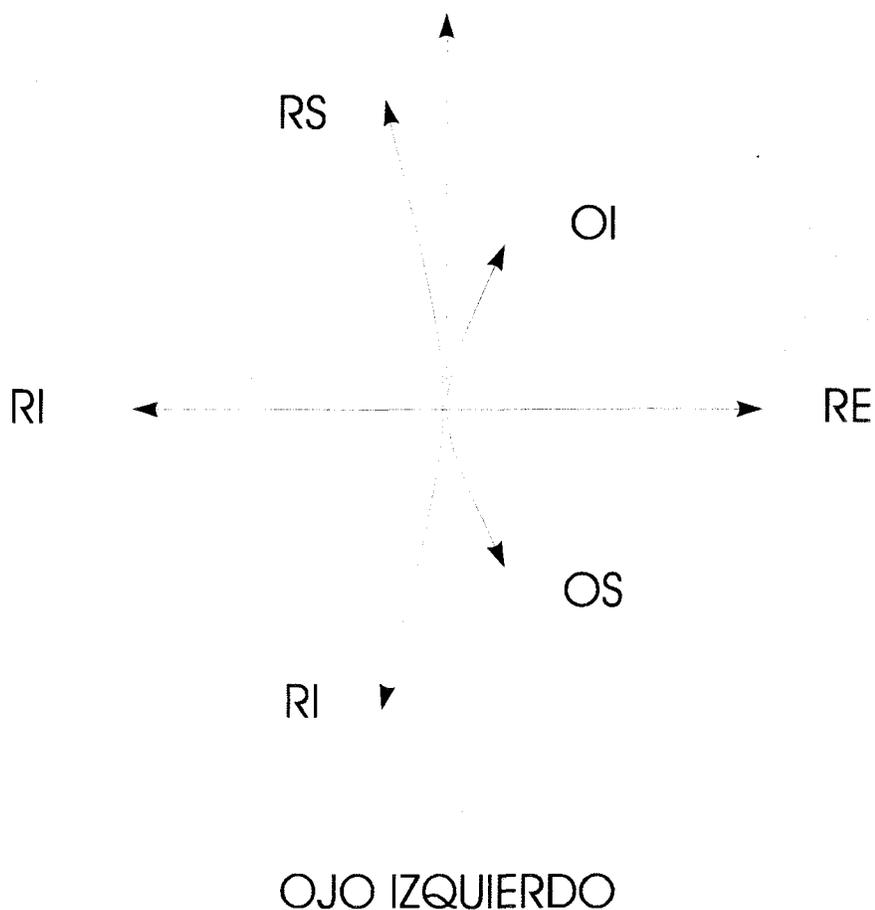


Figura 1. Representación esquemática de las acciones de la musculatura extraocular en la dirección del movimiento ocular. La flecha a trazos indica el movimiento producido por la contracción conjunta del músculo recto superior (RS) y el músculo oblicuo inferior (OI). Abreviaciones: OI, músculo oblicuo inferior; RI, músculo recto inferior; RE, músculo del recto externo; RI, músculo del recto interno; OS, músculo oblicuo superior; RS, músculo recto superior.

músculo recto externo. Por el contrario, los movimientos abducentes del ojo se producen por la contracción del músculo recto externo y por la distensión del músculo recto interno (Gouras, 1985).

Para la producción de movimientos verticales del ojo el sistema oculomotor distiende o contrae los músculos recto superior o inferior y oblicuo inferior o superior (**figura 1**). Así, la contracción del músculo *recto superior* y *oblicuo inferior*, y la distensión del *músculo recto inferior* y *oblicuo superior* produce movimientos ascendentes del ojo, mientras que la distensión del músculo *recto superior* y *oblicuo inferior*, y la contracción del músculo *recto inferior* y *oblicuo superior* produce movimientos descendentes del ojo.

Sin embargo, en condiciones naturales los movimientos oculares generados por el sistema nervioso no ocurren sólo en la dirección vertical u horizontal, sino en una combinación de ambas direcciones, esto es, en direcciones oblicuas.

1.1.2 Núcleos oculomotores

Los pares craneales III, IV y VI inervan la musculatura extraocular. Estos pares craneales tienen su origen en el núcleo del motor ocular común, núcleo troclear y núcleo del motor ocular externo (Büttner y Büttner-Ennever, 1988; Gouras, 1985; Evinger, 1988).

El *núcleo del motor ocular común* está localizado en el mesencéfalo a nivel del tubérculo cuadrigémino superior. Al contrario que el resto de los núcleos oculomotores, este núcleo motor está organizado a su vez en diferentes subnúcleos oculomotores. Cada uno de estos subnúcleos oculomotores tiene una posición fija dentro del núcleo del motor ocular común en cada especie

animal, e inerva uno de los músculos extraoculares. El núcleo del motor ocular común contiene las motoneuronas que inervan los músculos recto interno, recto inferior y oblicuo inferior del lado homolateral, y motoneuronas que inervan el músculo recto superior del lado contralateral.

El *núcleo del motor ocular externo* se localiza en la base del cuarto ventrículo, justo por debajo de la rodilla del facial. Sus motoneuronas inervan el músculo recto externo del lado homolateral.

El *núcleo troclear* se encuentra en el mesencéfalo, caudal al núcleo del motor ocular común y a nivel del tubérculo cuadrigémino inferior. Sus motoneuronas inervan el músculo oblicuo inferior del lado contralateral.

1.2 Movimientos oculares

La inmovilización de imágenes visuales en la retina es un requisito básico para la función visual. Desplazamientos de la imagen visual de unos pocos grados por segundo en la retina impiden el correcto procesamiento de la información visual por el sistema nervioso central.

Los ojos se encuentran suspendidos en sus órbitas por la acción de la musculatura extraocular, la cual determina la posición y movimiento del globo ocular. Debido a que los músculos extraoculares, y por lo tanto los ojos, están firmemente unidos a la cabeza, movimientos de la cabeza podrían producir desplazamientos indeseados de la imagen visual en la retina. Otro movimiento de la imagen visual sobre la retina se daría por el desplazamiento de la propia imagen visual. Para compensar estos desplazamientos de la imagen en la retina, el sistema

nervioso central genera el *reflejo vestibulo-ocular* y el *reflejo optocinético*. Estos dos movimientos oculares están presentes en todos los vertebrados.

Además de los reflejos antes comentados, el sistema nervioso puede producir *movimientos oculares rápidos o sacádicos*. Los movimientos sacádicos son movimientos oculares rápidos (en ocasiones más de 700 grados por segundo), de muy corta duración (15-100 ms en primates), que desplazan al ojo a distintas posiciones dentro de su órbita (normalmente el movimiento sacádico no excede los 40 grados) (Büttner y Büttner-Ennever, 1988) .

En animales con fovea, el sistema nervioso puede generar *movimientos de seguimiento* de un objeto móvil en la escena visual, independientemente del movimiento del resto del campo visual o del movimiento de la cabeza. Finalmente, los animales con visión frontal poseen un movimiento ocular adicional, o *movimiento de vergencia*.

1.2.1 Reflejo vestibulo-ocular

1.2.1.1 Aspectos generales del funcionamiento del reflejo vestibulo-ocular

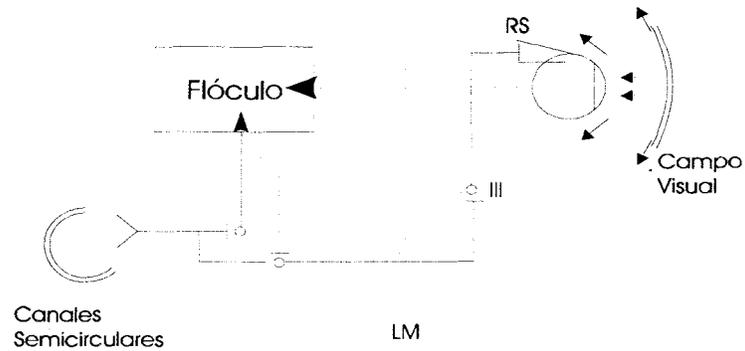
Durante movimientos de la cabeza, el reflejo vestibulo-ocular genera movimientos oculares compensatorios, esto es, en la dirección opuesta, de manera que la imagen visual permanece estacionaria en la retina. El sistema vestibulo-ocular funciona en la mayor parte de los casos en conjunción con el sistema visual. Así, información sensorial procedente de ambos sistemas sensoriales generará una salida oculomotora adecuada durante movimientos de la cabeza (Guyton, 1986).

La ganancia del reflejo vestibulo-ocular se define como la velocidad del movimiento ocular dividida por la velocidad del movimiento de la cabeza. Durante una perfecta ejecución del reflejo vestibulo-ocular la ganancia es uno, es decir, los ojos se mueven a la misma velocidad y en sentido contrario a la cabeza. En estas condiciones, los ojos se mueven dentro de su órbita y respecto a la cabeza, pero permanecen estacionarios respecto a un punto fijo, situado fuera del animal (ver **figura 3**). Se dice entonces que los ojos se mueven con una fase opuesta a la del movimiento de la cabeza (180 fuera de fase respecto al movimiento de la cabeza).

El reflejo vestibulo-ocular puede funcionar en condiciones de luz o de oscuridad. En el primer caso, los movimientos oculares compensatorios son dirigidos por información sensorial procedente del sistema visual así como del sistema vestibular. En condiciones de oscuridad, por el contrario, la única información sensorial que dirige los movimientos oculares compensatorios proviene del sistema vestibular. Estudios previos llevados a cabo por Ito y Bach-y-Rita, en 1969, en el mono ardilla, notaron la ausencia de cualquier tipo de propioceptores en los músculos extraoculares. La información de origen visual es, por el momento, la única información correctora conocida. De esta manera, se dice que el circuito neuronal que genera el reflejo vestibulo-ocular funciona a modo de circuito abierto, durante rotaciones de la cabeza en la luz, y como un circuito cerrado, durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad (**figura 2**).

En condiciones de oscuridad, las señales oculomotoras de salida proporcionan una buena estimación de la aportación del aparato vestibular al reflejo sin la intervención del sistema visual. En el mono ardilla, en condiciones normales, y durante rotaciones sinusoidales en el plano horizontal a 0,5 Hz y una amplitud máxima de +/-20 a +/- 35 grados por segundo, el reflejo vestibulo-ocular tiene una ganancia de 0,85 en oscuridad y 1 en luz (Bello y col., 1991; Paige, 1983).

A. Circuito cerrado



A. Circuito abierto

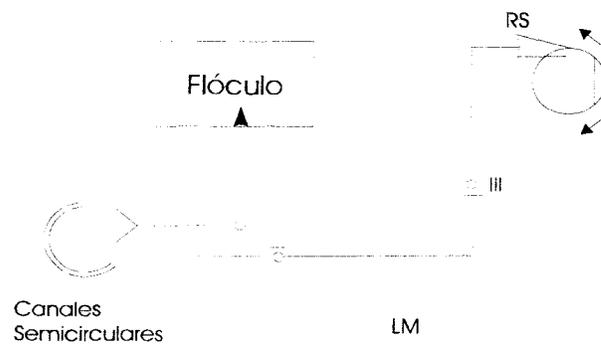


Figura 2. Representación esquemática del circuito que produce el reflejo vestibulo-ocular vertical. Por razones de simplicidad sólo se muestra la entrada vestibular a las motoneuronas del recto superior. En A, el circuito funciona como lazo cerrado. En B, la ausencia de información visual priva al circuito de la señal correctora (señal de error). El circuito funciona como se representa en B durante movimientos de la cabeza en la oscuridad y como se representa en A durante movimientos de la cabeza en la luz. Abreviaciones: III, núcleo del motor ocular común; LM, línea media; RS, recto superior.

1.2.1.2 Alteraciones instantáneas del reflejo vestibulo-ocular

En determinadas circunstancias, la salida normal del reflejo vestibulo-ocular puede ser alterada de manera instantánea (**figura 3**). Así, si el campo visual se rota a la misma amplitud pero en dirección opuesta a la de la cabeza, los movimientos oculares compensatorios deberán tener dirección opuesta (180 grados fuera de fase) y amplitud doble a la de los movimientos de la cabeza. De manera similar, si el campo visual se rota con la misma amplitud y en la misma dirección que la cabeza, los movimientos compensatorios producidos tenderán a mantener la posición de los ojos fija en su órbita. En el primer caso se está produciendo un aumento de la ganancia del reflejo (potenciación del reflejo vestibulo-ocular), mientras que en el segundo caso se está produciendo una disminución de la ganancia del reflejo (cancelación del reflejo).

Las alteraciones instantáneas en la salida motora del reflejo vestibulo-ocular son debidas a la suma de una entrada sensitiva de origen vestibular más la entrada correctora de origen visual. Estos cambios en la ganancia del reflejo se denominan modificaciones rápidas del reflejo vestibulo-ocular, y no constituyen cambios plásticos en el circuito neuronal implicado en el reflejo vestibulo-ocular.

1.2.2 Reflejo optocinético

En condiciones naturales el reflejo optocinético actúa como complemento al reflejo vestibular una vez éste, por adaptación a la nueva situación, ha dejado de actuar. Por ejemplo, un animal que está expuesto a rotaciones de la cabeza de una manera continuada y a la misma velocidad, producirá en un principio movimientos oculares compensatorios debido a la acción del

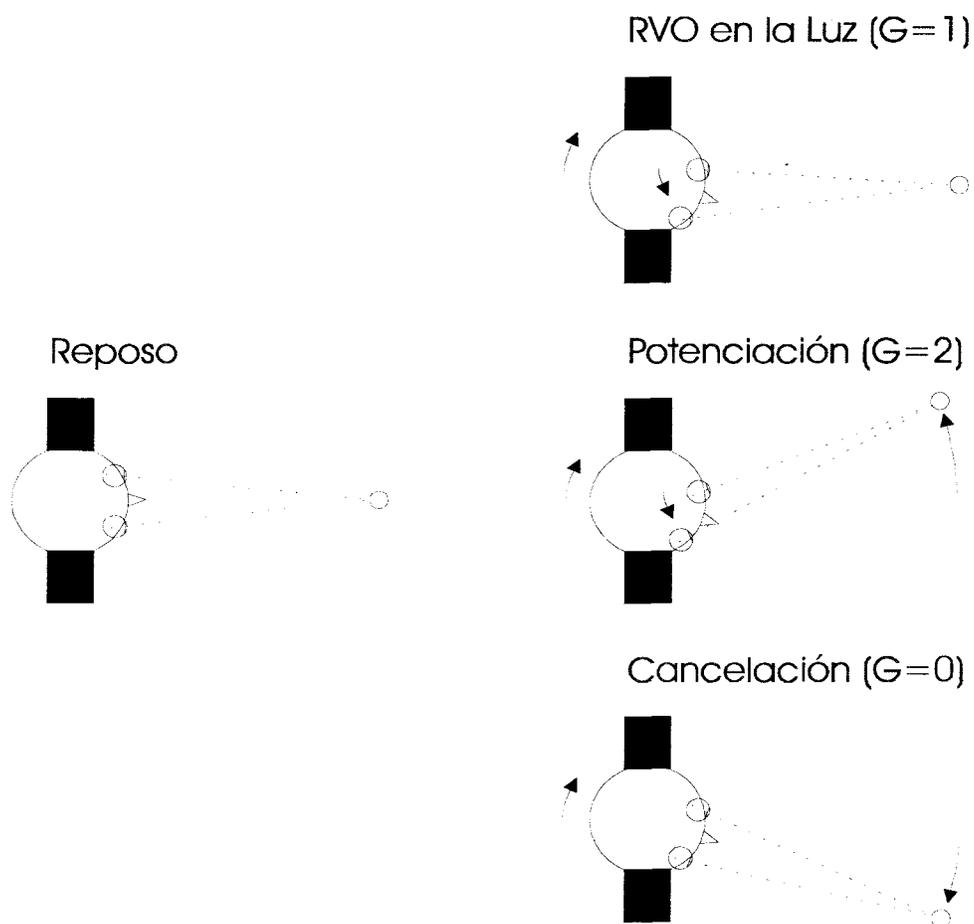


Figura 3. Movimientos oculares compensatorios generados tras la exposición del individuo a diferentes paradigmas de estimulación visuo-vestibular (reflejo vestibulo-ocular en la luz, potenciación del reflejo vestibulo-ocular y cancelación del reflejo vestibulo-ocular). Las flechas indican el movimiento de la cabeza, de los ojos y del objeto (campo visual en el caso de animales carentes de fovea). G representa el valor de ganancia del reflejo vestibulo-ocular en cada caso.

sistema vestibular. Tras poco tiempo, el sistema vestibular se adaptará a la nueva situación, y los movimientos oculares serán dirigidos por el sistema optocinético. El sistema optocinético utiliza el desplazamiento de la imagen visual en la retina para generar movimientos oculares compensatorios a los movimientos de la cabeza. Por lo tanto, se trata de una información sensorial de tipo visual, la que dirige los movimientos oculares durante el reflejo optocinético.

En la naturaleza, el reflejo optocinético se produce en cualquier animal que se mueva. De este modo, al nadar el campo visual de un pez se desplaza hacia atrás, mientras el animal avanza. Por otra parte, el reflejo optocinético se induce de forma experimental inmovilizando la cabeza del animal y rotando su campo visual (pantalla o imagen visual proyectada alrededor del animal).

La información que dirige los movimientos oculares durante el reflejo optocinético se origina en las células retinales (Oyster y col., 1972). Éstas proyectan al núcleo del tracto óptico accesorio y al núcleo del tracto óptico (Scalia, 1972; Simpson, 1984). Estas células tienen campos receptivos de gran tamaño y responden bien a movimientos de una parte considerable del campo receptivo (Grasse y Cynader, 1984; Hoffman y Distler, 1986). La información de estos núcleos se transmite a los núcleos del puente, sobre todo al núcleo *reticularis tegmenti pontis* (Holstege y Collewijn, 1982). Finalmente, también neuronas en los núcleos vestibulares responden a movimientos de porciones grandes del campo visual (Keller y Precht, 1979; Precht y col., 1982; Waespe y Henn, 1977a).

1.2.3 Movimientos sacádicos o movimientos oculares rápidos

Tanto en animales con fovea (primates) como sin fovea (no primates), durante movimientos de la cabeza de gran amplitud el sistema nervioso central genera unos movimientos

oculares rápidos que tienden a desplazar los ojos al centro de su órbita. Estos movimientos oculares rápidos, o movimientos sacádicos, son los movimientos más rápidos conocidos, en muchos casos con velocidades superiores a los 700 grados por segundo. Los movimientos sacádicos tienen una duración variable no inferior a 15 ms y no superior a 100 ms. Durante la ejecución del movimiento sacádico no existe procesamiento de la información visual.

Estos movimientos son necesarios ya que el movimiento del ojo en relación a la cabeza es limitado, cubriendo sólo un cierto número de grados, mientras que el movimiento de la cabeza en relación al espacio es, en principio, ilimitado. Así, durante un movimiento sostenido de la cabeza, los ojos responden con un movimiento en sentido contrario, para mantener la imagen visual en la retina. Una vez que los ojos se encuentran situados en una posición distal del centro de la órbita, movimientos ulteriores de la cabeza no podrían ser compensados por los ojos, por lo que sería imposible el mantenimiento de la imagen visual en la retina. La solución del sistema nervioso central es el desplazamiento rápido del ojo hacia el centro de la órbita, en el mismo sentido del movimiento de la cabeza, desde donde podría fijar una nueva imagen visual en la retina. De forma similar, los movimientos sacádicos serían necesarios para la inmovilización de imágenes visuales durante la estimulación optocinética.

Con la aparición de animales con fovea, como el ser humano, surge la necesidad de un nuevo movimiento ocular, independiente del movimiento de la cabeza. En estos animales, la fovea es el lugar de la retina que detecta una información más detallada de la escena visual. Es por tanto en la fovea donde se realiza un detallado examen del entorno. Así, es necesario desplazar la mirada a diferentes puntos de interés de la escena visual, de manera que el sistema nervioso realice un reconocimiento completo de los detalles del entorno que considere más importante para la interpretación de la misma. En los animales con fovea los movimientos sacádicos no están exclusivamente vinculados a los reflejos optocinético y vestibulo-ocular.

Para la generación del movimiento sacádico y el posterior mantenimiento del ojo en la nueva posición, se necesita una contracción fásica de la musculatura extraocular seguida de una contracción tónica de la misma, de acuerdo con los requerimientos de la nueva posición ocular. Un gran número de estructuras se han relacionado con el sistema sacádico, pero de entre ellas sólo la formación reticular pontina y la formación reticular mesencefálica son necesarias para la generación del mismo (Bender y Shanzer, 1964; Carpenter, 1971; Carpenter y col., 1963; Cohen y col., 1968; Graybiel, 1977a ,b; McCrea y col., 1986). Ambas son estructuras premotoras; la primera está relacionada con movimientos sacádicos en el plano horizontal, mientras que la segunda está relacionada con movimientos sacádicos en el plano vertical. Otras estructuras se han relacionado con el mantenimiento del tono muscular tras el movimiento sacádico, como el tálamo, los ganglios basales, la sustancia negra, el cerebelo, el colículo superior y el lóbulo parietal (Büttner y Büttner-Ennever, 1988).

1.2.4 Reflejo de seguimiento visual

Los movimientos de un punto de interés dentro de la escena visual son seguidos por movimientos oculares con el objeto de mantener la imagen de ese punto estable en la fovea. Estos movimientos, al contrario que ocurre en el reflejo optocinético, son de carácter voluntario. Este movimiento se denomina reflejo de seguimiento visual y está presente sólo en animales dotados de fovea. El circuito neuronal responsable de la generación de estos movimientos oculares incluye estructuras corticales, del tronco del encéfalo y del cerebelo. El diagrama de la **figura 4** muestra un esquema de la ruta seguida por la información de origen visual desde la retina hasta la motoneurona. Los estudios realizados hasta ahora no descartan la posibilidad de otras rutas paralelas para la generación de los movimientos oculares de seguimiento (Büttner y Büttner-Ennever, 1988).

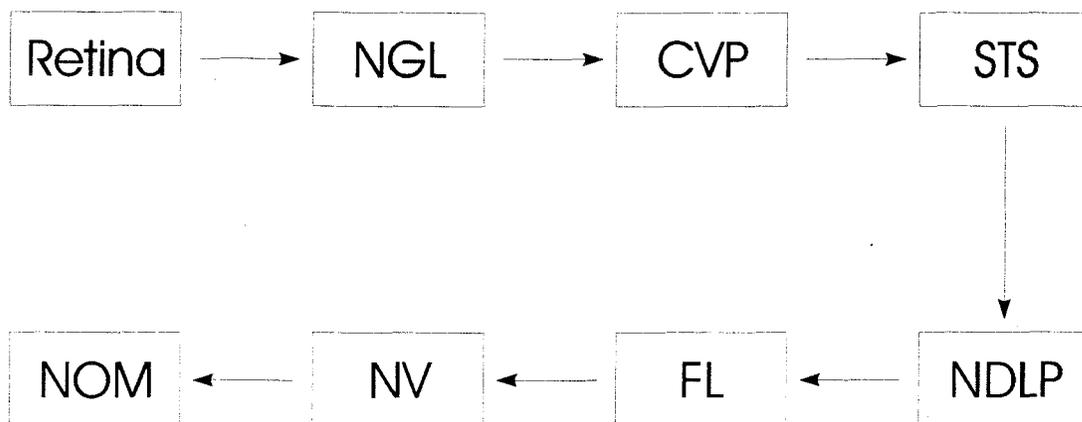


Figura 4. Vía de transmisión de la información sensorial que dirige los movimientos oculares durante el reflejo de seguimiento visual. Abreviaciones: CPV, corteza visual primaria; FL, flóculo del cerebelo; NDLP, núcleo dorso-lateral del puente; NGL, núcleo geniculado lateral; NOM, núcleos oculomotores; STS, surco temporal superior (en la corteza estriada); NV, núcleos vestibulares.

1.2.5 Movimientos de vergencia

Con el desarrollo de animales de visión frontal, aparece un nuevo tipo de movimiento ocular, o movimiento de vergencia. Este movimiento sólo ocurre respecto al plano horizontal del ojo, y tiene como objeto proyectar la misma imagen visual en ambas foveas (visión estereoscópica). La frontalización de la visión es importante desde el punto evolutivo, ya que añade una información más precisa sobre el objeto de interés. Con la aparición de la visión estereoscópica el sujeto tiene información más fidedigna de la profundidad de los objetos presentes en la escena visual.

Las estructuras premotoras responsables de los movimientos de vergencia se encuentran en una posición dorsal y lateral al núcleo del motor ocular común (Mays, 1984; Mays y Porter, 1984). Registros electrofisiológicos en neuronas de la corteza cerebral sugieren la participación de esta estructura en los movimientos de vergencia (Poggio y Fischer, 1977). Adicionalmente, registros electrofisiológicos en el flóculo del cerebelo sugieren también una participación del mismo en dichos movimientos oculares (Miles y col., 1980).

1.3 El sistema vestibular. Reflejo vestibulo-ocular

1.3.1 Canales semicirculares

En los vertebrados, los órganos sensoriales vestibulares se localizan en el denominado laberinto membranoso, situado en cavidades del hueso temporal, o laberinto óseo. Estos órganos vestibulares pueden dividirse, de acuerdo con el tipo de información que detectan, en órganos otolíticos y canales semicirculares. Los órganos otolíticos están constituidos por el utrículo y el sáculo, y detectan preferentemente aceleraciones lineales de la cabeza en el espacio. Los canales semicirculares (anterior, posterior y horizontal) detectan información concerniente a la aceleración angular de la cabeza.

Los canales semicirculares están formados por tubos huecos de forma toroidal que se inician y acaban en el oído interno. Estos conductos están rellenos de una solución salina conductora, o endolinfa. En uno de los dos extremos del tubo que conecta con el oído interno existe una protuberancia, o dilatación terminal, donde se localiza la ámpula del canal semicircular. En el interior del canal, y a nivel de las dilataciones terminales existe una lámina compuesta por células diferenciadas, o células ciliadas, dispuesta de forma perpendicular a la luz del canal. Estas células contienen una superficie ciliada que se proyecta al interior del canal, en la endolinfa. El conjunto de cilios en la ámpula de cada canal está contenido en una especie de bolsa gelatinosa rica en mucopolisacáridos, denominada cúpula.

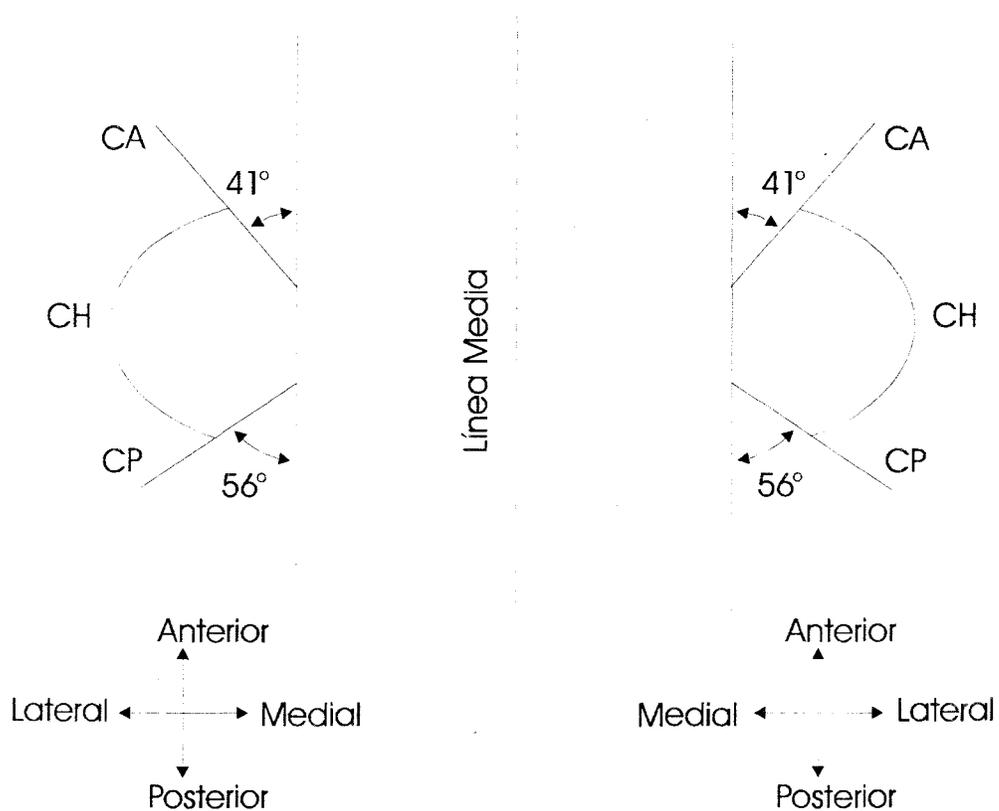
Las células ciliadas se encargan de la detección del movimiento de la cúpula respecto al soporte óseo del canal. Para la detección de aceleraciones angulares de la cabeza, las células

ciliadas utilizan la orientación de los cilios indiferenciados o estereocilios, respecto a un cilio diferenciado de mayor longitud llamado quinocilio.

Durante los movimientos del canal (cabeza) en una dirección determinada, la endolinfa se desplaza, respecto al canal, en la dirección opuesta. La cúpula se desplaza conjuntamente con la endolinfa, produciendo una inclinación de los cilios de las células sensoriales. Durante inclinaciones de los estereocilios hacia el quinocilio las células ciliadas se despolarizan, mientras que durante inclinaciones de los estereocilios alejándose del quinocilio las células ciliadas se hiperpolarizan. Por lo tanto, las células ciliadas transforman la información mecánica en señales eléctricas que serán posteriormente recogidas por las terminaciones de las neuronas aferentes vestibulares localizadas en el ganglio de Scarpa.

En primates, así como en la mayoría de los vertebrados, los canales semicirculares están distribuidos en planos casi ortogonales de manera que informan de movimientos angulares de la cabeza en las tres direcciones del espacio (Simpson y Graf, 1985). El canal semicircular anterior detecta movimientos de la cabeza principalmente en el plano vertical, aumentando la excitabilidad de sus aferentes vestibulares durante movimientos descendentes de la cabeza. El canal semicircular posterior detecta principalmente movimientos angulares de la cabeza en el plano vertical, aumentando la excitabilidad de sus aferentes del VIII par craneal durante movimientos ascendentes de la cabeza. Finalmente, el canal semicircular horizontal está encargado principalmente de la detección de movimientos en el plano horizontal. Las aferentes vestibulares del canal horizontal responden con un aumento en la frecuencia de potenciales de acción durante movimientos homolaterales de la cabeza.

La orientación de los canales semicirculares permite asociar su función por pares (**figura 5**). Así, el canal horizontal del oído derecho es antagónico al canal semicircular horizontal del oído izquierdo, el canal semicircular anterior del oído derecho es antagónico al canal semicircular



VISTA DESDE ARRIBA

Figura 5. Dirección de respuesta máxima de cada uno de los canales semicirculares. Abreviaciones: CA, canal semicircular anterior; CH, canal semicircular horizontal; CP, canal semicircular posterior.

posterior del oído izquierdo y el canal semicircular posterior del oído derecho es antagónico al canal semicircular anterior del oído izquierdo (Sans, 1992). De esta manera, el reflejo vestibulo-ocular puede generar movimientos oculares compensatorios durante movimientos de la cabeza en cualquier dirección del espacio.

La información procedente del aparato vestibular es transmitida al sistema nervioso central a través del VIII par craneal (Cajal, 1904; Highstein, 1991) y, desde aquí, a los músculos extraoculares a través de las motoneuronas de los núcleos oculomotores. El VIII par craneal está constituido por una rama vestibular y una rama acústica. El cordón anterior o vestibular se introduce en el bulbo raquídeo, por delante del cuerpo restiforme, acabando en los denominados ganglios de terminación central (Cajal, 1904). Estos ganglios de terminación central corresponden a los denominados núcleos vestibulares.

Lorente de Nó en 1933, y posteriormente Szentágothai en 1950, establecieron los principios básicos en los que se fundamenta nuestra comprensión del reflejo vestibulo-ocular, describiendo el circuito de latencia corta de dicho reflejo. Este circuito está compuesto por tres neuronas; a) las aferentes vestibulares del VIII par craneal, cuyos somas están localizados en el ganglio de Scarpa, b) las neuronas de los núcleos vestibulares, y c) las motoneuronas localizadas en los núcleos oculomotores (**figura 6**).

La información sensorial procedente del nervio vestibular está codificada en tres ejes de coordenadas, correspondientes a los planos de orientación de cada canal (ver **figura 5**). Por el contrario, el plan motor está organizado en las direcciones de movimiento de cada par de músculos (ver **figura 1**). La transducción desde un plan sensorial a un plan motor se realiza dentro del sistema nervioso central y se transmite a los músculos extraoculares para producir la salida motora correcta durante movimientos de la cabeza en cualquier dirección del espacio.

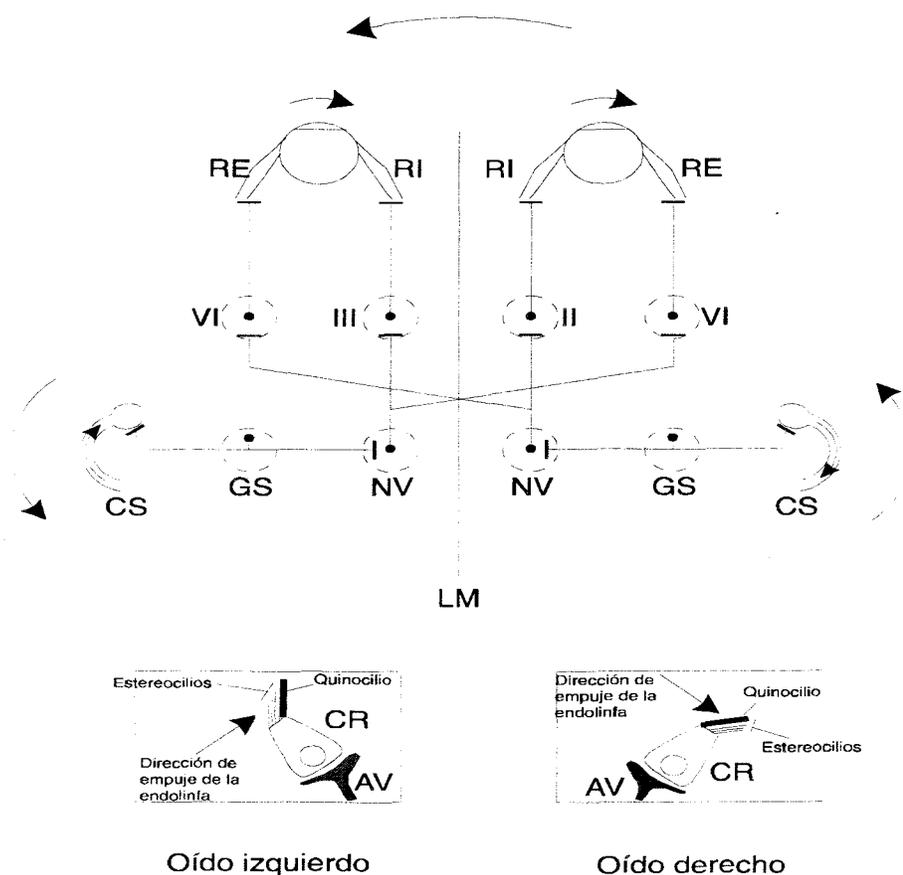


Figura 6. Circuito de latencia corta del reflejo vestibulo-ocular horizontal. Las flechas en negro indican la dirección de movimiento de la cabeza y las flechas en blanco la dirección de movimiento de los ojos. Abajo en cada uno de los cuadros se muestra la dirección de movimiento de los cilios de las células receptoras en la ampolla del canal semicircular. Abreviaciones: AV, aferente vestibular; CR, célula receptora; CS, canales semicirculares (canal semicircular horizontal); GS, ganglio de Scarpa; III, núcleo del motor ocular común (motoneuronas del recto interno); NV, núcleos vestibulares; RE, músculo recto externo; RI, músculo recto interno; VI, núcleo del motor ocular externo.

1.3.2 Vías centrales de la información vestibular.

La información sensorial detectada por las células ciliadas de los canales semicirculares es transmitida a través de sus aferentes del ganglio de Scarpa (neuronas vestibulares de primer orden), a los núcleos vestibulares del tronco del encéfalo. Las neuronas vestibulares que reciben entradas excitadoras directas desde el nervio vestibular se denominan neuronas vestibulares de segundo orden. Desde aquí la información puede ser enviada directamente a las motoneuronas de los núcleos oculomotores así como a otras estructuras del sistema nervioso central (núcleos vestibulares contralaterales, núcleo prepositus hipoglossi, cerebelo, núcleo intersticial de Cajal y corteza cerebral).

Las neuronas de segundo orden, en los núcleos vestibulares, que proyectan directamente a los núcleos oculomotores son las responsables del potencial bisináptico observado en estos núcleos tras la activación eléctrica del nervio vestibular y constituyen el circuito de latencia corta del reflejo vestíbulo-ocular (Graf y col., 1983; Highstein, 1973; Highstein y col., 1971; Lorente de Nó, 1933). El circuito de latencia larga de este reflejo está formado por neuronas de segundo (y mayor) orden, con proyecciones dentro del sistema nervioso central, y, con su posterior salida oculomotora a través de las motoneuronas de los núcleos oculomotores.

1.3.2.1 Reflejo vestíbulo-ocular horizontal

El canal semicircular horizontal es el principal responsable de la detección de movimientos de la cabeza en el plano horizontal. El canal semicircular horizontal homolateral y contralateral actúan de forma complementaria. Así, movimientos de la cabeza hacia un lado

aumentan la tasa de disparo de las aferentes del canal semicircular horizontal homolateral y disminuyen la tasa de disparo del canal semicircular horizontal contralateral.

1.3.2.1.1 Circuito de latencia corta del reflejo vestibular horizontal

El circuito básico del reflejo vestibulo-ocular horizontal está constituido por las aferentes vestibulares primarias, procedentes del ganglio de Scarpa, las neuronas vestibulares de segundo orden, localizadas en los núcleos vestibulares, y las motoneuronas de los músculos recto interno (localizadas en el núcleo del motor ocular común) y recto externo (localizadas en el núcleo del motor ocular externo) (**figura 6**).

Las neuronas secundarias de los núcleos vestibulares que forman parte del arco de tres neuronas en el circuito del reflejo vestibulo-ocular horizontal se encuentran localizadas en el núcleo vestibular medial y en el núcleo vestibular lateral (McCrea y col., 1987a).

El *núcleo vestibular medial* se encuentra en la base del cuarto ventrículo y lateral al núcleo del motor ocular externo. Ventralmente al núcleo vestibular medial se encuentra la formación reticular, y caudalmente el núcleo prepositus hipoglossi.

El *núcleo vestibular lateral* se divide a su vez en una porción dorsal y una porción ventral. Los axones eferentes de la porción dorsal del núcleo vestibular lateral constituyen el haz vestibulo-espinal descendente lateral. Se considera que estas neuronas participan en el control de la musculatura esquelética del tronco y cuello. La porción ventral del núcleo vestibular lateral envía eferencias hacia los núcleos oculomotores, los núcleos vestibulares y el tálamo. Así, la porción ventral del núcleo vestibular lateral estaría relacionada con el control de los movimientos oculares.

Se han distinguido tres tipos de neuronas de segundo orden que forman parte del circuito de tres neuronas del reflejo vestibulo-ocular horizontal. En primer lugar, neuronas localizadas en el núcleo vestibular medial y en el núcleo vestibular ventro-lateral que establecen sinapsis excitadoras con el núcleo del motor ocular externo contralateral. En segundo lugar, neuronas localizadas en el núcleo vestibular medial y en el núcleo vestibular ventro-lateral que establecen sinapsis inhibitoras con el núcleo del motor ocular externo homolateral (Baker y col., 1969; Baker y Spencer, 1981; Escudero y Delgado-García, 1988; Escudero y col., 1992). Finalmente, neuronas del núcleo ventro-lateral que establecen sinapsis excitadoras con las motoneuronas del recto interno en el núcleo del motor ocular común. Estos tres tipos neuronales se muestran sensibles a movimientos oculares en el plano horizontal (Highstein y Reisine, 1981; McCrea y col., 1980; McCrea y col., 1981).

1.3.2.1.2 Circuito de latencia larga del reflejo vestibulo-ocular horizontal

Además de a la proyección hacia los núcleos oculomotores, la información vestibular recibida por las neuronas de segundo orden es enviada también a otras áreas del sistema nervioso central. En concreto, neuronas del núcleo vestibular medial envían proyecciones al núcleo prepositus hipoglossi homolateral y contralateral, núcleos vestibulares homolaterales y contralaterales, y cerebelo homolateral y contralateral (McCrea y col., 1987a). Estas estructuras realizan un procesamiento adicional de la información vestibular, que posteriormente se envía a los núcleos oculomotores.

Neuronas premotoras pertenecientes al circuito de latencia larga del reflejo vestibulo-ocular horizontal incluyen aquellas localizadas en los núcleos vestibulares, en el núcleo prepositus hipoglossi e, incluso, a las interneuronas del núcleo del motor ocular externo. Estos tres grupos de neuronas premotoras contienen información de posición de los ojos en la órbita y

de velocidad de la cabeza en el espacio, así como información concerniente a los movimientos sacádicos oculares. Todas estas neuronas premotoras proyectan al núcleo del motor ocular externo o al núcleo del motor ocular común (motoneuronas del recto interno).

1.3.2.2 Sustrato anatómico del reflejo vestibulo-ocular vertical

El reflejo vestibulo-ocular vertical produce movimientos oculares compensatorios en el plano vertical. La información sensorial referente a movimientos de la cabeza en el plano vertical es transmitida principalmente desde los canales semicirculares anterior y posterior de ambos oídos internos hacia el sistema nervioso central.

La información vestibular alcanza los núcleos vestibulares a través del nervio vestibular. Aquí es procesada y transmitida a otras áreas del sistema nervioso central, como los núcleos oculomotores, núcleos vestibulares contralaterales, cerebelo homolateral y contralateral, núcleo prepositus hipoglossi, corteza cerebral y núcleo intersticial de Cajal.

1.3.2.2.1 Circuito de latencia corta del reflejo vestibulo-ocular vertical

Los núcleos vestibulares principales implicados en la ejecución del reflejo vestibulo-ocular vertical son el núcleo vestibular medial, el núcleo vestibular superior y el núcleo vestibular lateral (McCrea y col., 1987b).

El *núcleo vestibular superior*, denominado también núcleo de Bechterew, constituye uno de los núcleos vestibulares con mayor número de proyecciones desde los canales semicirculares

anterior y posterior (Abend, 1977; Carleton y Carpenter, 1984; Gacek, 1969; Korte, 1979). El núcleo vestibular superior está situado en el ángulo exterior del cuarto ventrículo, tiene forma triangular y posee el aspecto de una excrecencia dorsal del núcleo de Deiters (Cajal, 1904). La mayor parte de las neuronas del núcleo vestibular superior se activan monosinápticamente tras la estimulación del nervio vestibular homolateral (Abend, 1977; Carleton y Carpenter, 1984; Gacek, 1969; Mitsacos y col., 1983; Zang y col., 1993a, b).

La estimulación eléctrica del nervio vestibular tiene como consecuencia la activación bisináptica de la totalidad de los núcleos oculomotores homolaterales relacionados directamente con la ejecución del reflejo vestibulo-ocular vertical, e inhibición bisináptica de los núcleos homolaterales. Este arco reflejo, compuesto por tres neuronas, constituye el circuito de latencia corta del reflejo vestibulo-ocular vertical (Highstein, 1971, 1973, Highstein y Ito, 1971; Ito, 1970).

En gatos y en conejos, Graff y col. (1983) identificaron mediante estimulación eléctrica del nervio vestibular y marcaje con peroxidasa de rábano neuronas del núcleo vestibular medial que reciben proyecciones desde el canal semicircular posterior y terminan en el núcleo del motor ocular común (sobre las motoneuronas del recto inferior) y en el núcleo troclear. Estas neuronas premotoras son responsables de los movimientos descendentes del ojo.

Chubb y col. (1984) y Tomlinson y Robinson (1984) han distinguido varias clases de neuronas, de acuerdo con su respuesta durante la estimulación visuo-vestibular; i) neuronas con señal de velocidad de la cabeza en el espacio; ii) neuronas con señal de velocidad de la cabeza y señal de posición ocular; iii) neuronas con señal de velocidad de los ojos respecto a la cabeza; y iv) neuronas con señal de velocidad de los ojos en el espacio (y con mayor o menor señal de posición ocular). Todas estos tipos neuronales proyectan a los núcleos oculomotores.

1.3.2.2 Circuito de latencia larga del reflejo vestibulo-ocular vertical

El circuito neuronal que elabora el reflejo vestibulo-ocular vertical contiene una gran riqueza de conexiones comisurales, que conectan los núcleos vestibulares de ambos lados (Mitsacos y col., 1983; Ito y col., 1973a, b, 1976a, b; Highstein, 1971, 1973; Pompeiano y col., 1978; Uchino y col., 1978, 1980a, b, 1982). También se ha sugerido la presencia de proyecciones excitadoras desde neuronas vestibulares de segundo orden hacia neuronas situadas en la porción dorsal del núcleo Y homolateral (Sato y Kawasaki, 1987). Asimismo, las neuronas de segundo orden que intervienen en el reflejo vestibulo-ocular vertical proyectan a otras áreas del sistema nervioso, tales como el núcleo prepositus hipoglossi, flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo y núcleo intersticial de Cajal (Langer y col., 1985a; Zang y col., 1993a).

Zang y col. (1993a) mostraron que las neuronas del núcleo vestibular superior con información de la velocidad de la cabeza en el espacio envían proyecciones directas hacia el cerebelo homolateral y, probablemente, al cerebelo contralateral. Estas neuronas, sin embargo, no envían colaterales a los núcleos oculomotores. Asimismo, Highstein y col. (1971a, 1973) demostraron la existencia de conexiones sinápticas inhibitorias que conectaban ambos complejos vestibulares. La mayor parte de las neuronas que proyectan a los núcleos vestibulares contralaterales envían a su vez proyecciones a los núcleos oculomotores (Graff y col., 1983; McCrea y col., 1987b). Esto ocurre tanto en el circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical como del horizontal (McCrea y col., 1987a, b), con lo que el circuito de latencia corta del reflejo y el circuito de latencia larga presentan, en ciertas rutas, vías comunes de paso de la información.

Se ha sugerido que la porción dorsal del núcleo Y pertenece a un circuito de latencia larga del reflejo vestibulo-ocular vertical (Partsalis y col., 1995a,b; Fukushima y col., 1986; Sato y Kawasaki, 1987; Yamamoto y col., 1986). Al contrario que ocurre con la porción dorsal del

núcleo Y, donde la bibliografía existente no es muy abundante, existen suficientes datos experimentales que demuestran una ruta bisináptica vestibular que envía la información procedente de los canales semicirculares a las neuronas premotoras localizadas en el núcleo prepositus hipoglossi (Graf y col., 1983; McCrea y col., 1987a, b) y el núcleo intersticial de Cajal (Fukushima y Kaneko, 1995; Graf y Ezure, 1986).

1.4 Comparación del reflejo vestíbulo-ocular vertical con el reflejo vestíbulo-ocular horizontal

Para nuestro trabajo experimental elegimos el reflejo vestíbulo-ocular vertical por su simplicidad respecto al reflejo vestíbulo-ocular horizontal. Al contrario que el reflejo vestíbulo-ocular horizontal, en el reflejo vestíbulo-ocular vertical no se da el fenómeno de vergencia ocular. Este fenómeno de vergencia afecta a la ganancia del reflejo vestíbulo-ocular. Así, durante rotaciones de la cabeza en el plano horizontal, la ganancia del ojo derecho no es la misma que la del ojo izquierdo.

En el reflejo vestíbulo-ocular vertical no existen neuronas internucleares conectando los núcleos oculomotores, y todos los núcleos oculomotores reciben inhibición bisináptica desde el laberinto homolateral, y excitación bisináptica desde el laberinto contralateral (Highstein, 1973; Ito y col., 1977). Finalmente, las neuronas de los núcleos vestibulares implicadas en el reflejo vestíbulo-ocular vertical están organizadas en grupos neuronales discretos, al contrario de lo que ocurre a las neuronas que intervienen en el reflejo vestíbulo-ocular horizontal.

1.5 El cerebelo

1.5.1 Aspectos generales del cerebelo.

El cerebelo es una estructura del sistema nervioso central presente en todos los vertebrados. El cerebelo está situado por debajo y detrás del cerebro, constituyendo una especie de protuberancia del bulbo. Aunque el cerebelo constituye sólo el 10 % del peso de todo el sistema nervioso central contiene más de la mitad de todas las neuronas del mismo (Chez y Stanley, 1985). Edinger, a finales del pasado siglo relacionó el volumen del cerebelo y el número de sus circunvoluciones con el control de la estabilidad de la cabeza y del cuerpo (Cajal, 1904).

El cerebelo está constituido por una sustancia blanca central y una sustancia grisácea en la corteza. Adicionalmente, en el hombre y vertebrados superiores existe una serie de agrupaciones de neuronas formando núcleos en la zona central del cerebelo, por encima de la unión con el tronco del encéfalo. A estos núcleos se les han denominado núcleos profundos cerebelosos.

La corteza cerebelosa está dividida en tres capas, la capa molecular, la capa de células de Purkinje y la capa granulosa. La capa molecular está formada por células estrelladas y células en cesta. La capa de células de Purkinje está formada por una lámina continua de los somas de dichas células. La capa de los granos está formada por las células de los granos y células de Golgi. Las conexiones entre las diferentes células de la corteza cerebelar aparecen reflejadas en la **figura 7**. Estas conexiones forman un circuito que se repite a lo largo de toda la extensión de la corteza cerebelosa.

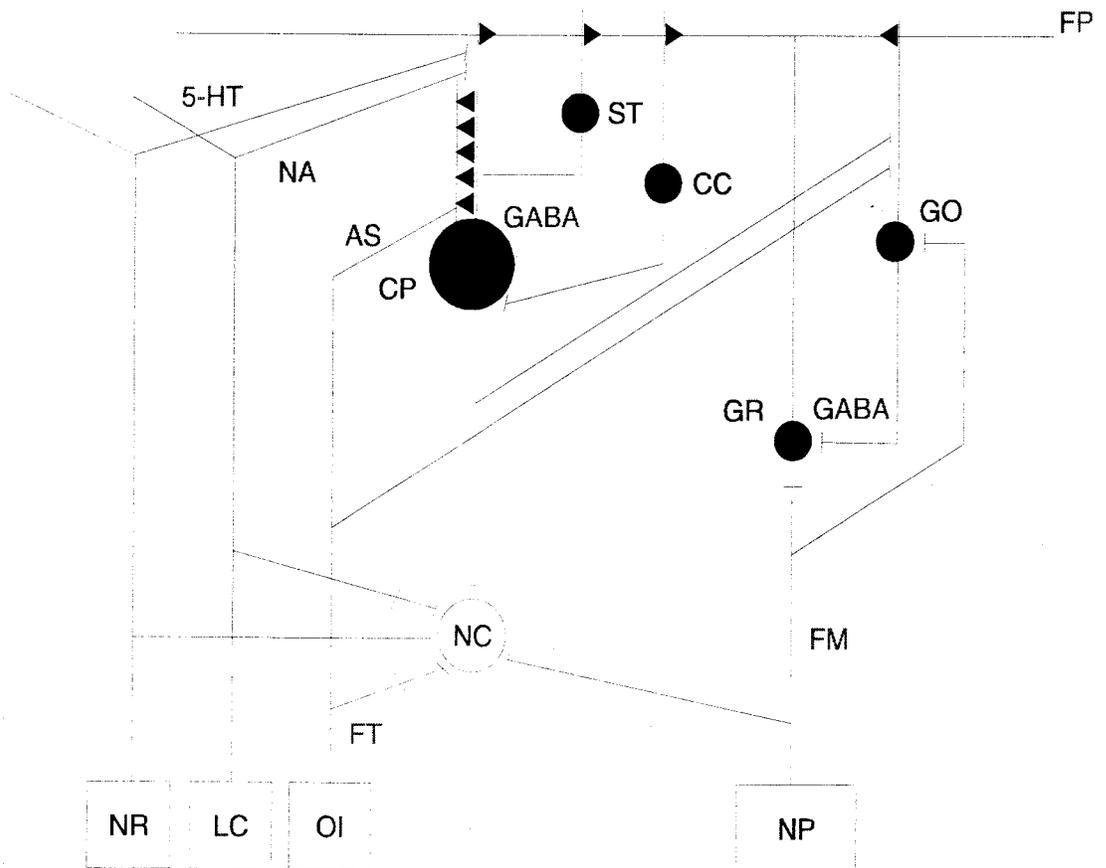


Figura 7. Circuito de la corteza cerebelar. Abreviaciones: AS, aspartato; CC, célula en cesta; CP, célula de Purkinje; FM, fibra musgosa; FT, fibra trepadora; GO, célula de Golgi; GR, célula de los granos; LC, locus coeruleus; NA, noradrenalina; NC, núcleos profundos del cerebelo; NP, núcleos del puente; NR, núcleos del rafe; ST, célula estrellada; 5-HT, serotonina. Figura tomada de Ito, 1984.

Peces, anfibios y reptiles tienen un cerebelo primitivo de pequeño tamaño. En aves el cerebelo posee un volumen proporcionalmente mayor, aunque es en mamíferos donde alcanza su mayor desarrollo.

1.5.2 Participación del cerebelo en el reflejo vestibulo-ocular

El paso de la información vestibular a través de estructuras como el cerebelo añade un número mayor de sinapsis en el circuito, lo que proporciona latencias de respuesta más largas a las descritas por Lorente de Nó en 1933. El cerebelo (y en particular el flóculo y paraflóculo ventral) juega un papel importante en el control de los movimientos oculares (Waespe y col., 1983; Zee y col., 1981). El flóculo del cerebelo es una de las partes integrantes del denominado vestibulo-cerebelo o cerebelo primitivo, denominado así porque aparece en los vertebrados inferiores.

1.5.2.1 Aferentes al cerebelo

La información visual concerniente al desplazamiento de imágenes visuales en la retina llega al cerebelo a través de los núcleos del puente (Brodal, 1979; Langer y col., 1985a), previo paso por la corteza estriada. Gran parte de las entradas visuales al cerebelo, provenientes de los núcleos del puente, terminan como *fibras musgosas* a nivel del flóculo del cerebelo. Los resultados obtenidos en experimentos de lesión (Zee y col., 1981), estimulación (Ron y Robinson, 1973) y registro de la actividad neuronal a nivel del flóculo del cerebelo (Lisberger y Fuchs, 1978a, b; Miles y Fuller, 1975; Stone y Lisberger, 1990a, b) sugieren una contribución esencial de esta estructura cerebelosa en la ejecución de movimientos oculares durante el seguimiento de objetos visuales.

Además de la información de tipo visual comentada anteriormente, la información vestibular procedente de neuronas vestibulares primarias llega también al cerebelo a través de *fibras musgosas* (Langer y col., 1985a; Zang y col., 1995a). Las neuronas de los núcleos vestibulares que envían proyecciones al flóculo aportan información referente a la velocidad y posición ocular, así como a la velocidad de la cabeza (Cheron y col., 1996; Escudero y col., 1996; Zang y col., 1995). Las neuronas que envían proyecciones al flóculo han sido localizadas en el núcleo vestibular superior, núcleo vestibular medial y núcleo prepositus hipoglossi (Cheron y col., 1996; Escudero y col., 1996; Langer y col., 1985a; Zang y col., 1995a). Zang (1993a) demostró que neuronas localizadas en el núcleo vestibular superior consideradas como aferentes al flóculo son activadas monosinápticamente desde el nervio del VIII par craneal, pero no antidrómicamente desde el núcleo oculomotor. Por lo tanto, estas neuronas no participan en el circuito de latencia corta del reflejo vestíbulo-ocular.

El flóculo del cerebelo recibe también entradas excitadoras a través de *fibras trepadoras* desde neuronas localizadas en la porción dorsal de la oliva inferior. Estas neuronas olivares producen potenciales de acción durante desplazamientos de la imagen visual en la retina. Neuronas situadas en esta porción de la oliva inferior han sido descritas tradicionalmente como elementos que contienen la señal de error en el circuito vestíbulo-ocular. Haddad y col. (1980) observaron la abolición de cambios plásticos en el reflejo vestíbulo-ocular tras lesiones en la porción dorsal de la oliva inferior, pero no observaron cambios significativos en la ganancia del reflejo.

1.5.2.2 Eferentes del cerebelo al tronco del encéfalo.

Langer y col. (1985b) realizaron inyecciones de marcadores anterógrados en el flóculo del cerebelo del *Macacus rhesus*, encontrando terminales en diferentes regiones de los núcleos

vestibulares homolaterales. Principalmente, el núcleo vestibular superior, el núcleo vestibular medial y la división dorsal del núcleo Y reciben entradas inhibitorias desde el flóculo del cerebelo. De todos ellos, la división dorsal del núcleo Y constituye la zona que presenta mayor densidad de terminales sinápticos procedentes del flóculo cerebeloso.

La inyección de trazadores retrógrados en el núcleo vestibular medial, núcleo vestibular superior y núcleo vestibular lateral en el mono confirma la existencia de una organización zonal de las salidas floculares. Balaban y col. (1981) mostraron una organización en tres bandas en el flóculo del *Macacus rhesus*; una central, posiblemente relacionada con el reflejo vestíbulo-ocular horizontal, y dos laterales, posiblemente involucradas en el reflejo vestíbulo-ocular vertical.

Mediante estudios electrofisiológicos se ha demostrado que la salida flocular tiene carácter inhibitorio sobre las neuronas de los núcleos vestibulares. Zang y col. (1995b) registraron un cese en la actividad de las neuronas que reciben entradas del flóculo tras la estimulación eléctrica del flóculo del cerebelo homolateral. Sato y Kawasaki (1987), y posteriormente Partsalis y col. (1995b) registraron un aumento de la tasa de disparo de las neuronas del núcleo Y tras la inyección de muscimol (un agonista de GABA) en el flóculo homolateral.

En los núcleos vestibulares, las neuronas que reciben entradas del flóculo del cerebelo contienen información referente a la posición y velocidad de los ojos en su órbita o con respecto al entorno (Lisberger y Pavelko, 1986; Lisberger y Miles, 1980; Partsalis y col., 1995a; Sato y col., 1982; Zang y col., 1995a, b). Las neuronas que reciben entradas del flóculo, localizadas en el núcleo vestibular superior y en el núcleo Y dorsal se pueden activar antidrómicamente desde el núcleo del motor ocular común. Estos dos tipos neuronales constituyen por lo tanto poblaciones de neuronas premotoras con consecuencias directas sobre la salida motora.

1.5.3 Participación del cerebelo en el aprendizaje del reflejo vestibulo-ocular

El cerebelo constituye una estructura importante para la realización de tareas innatas o aprendidas y durante la adquisición de nuevas habilidades motoras. El reflejo vestibulo-ocular, así como el reflejo corneal han sido utilizados ampliamente como modelos para el estudio del aprendizaje motor. Se sabe que diversos tipos de lesión cerebelar resultan en déficits comportamentales para ambos reflejos (Ito y col., 1980; Nagao, 1989; Robinson, 1976; Zee y col., 1981) e impiden el aprendizaje de nuevas pautas oculomotoras (Ito, 1984; McCormick y col., 1981; Robinson, 1976).

En 1966, Marr propuso la teoría cerebelar del aprendizaje motor, según la cual las sinapsis procedentes de las fibras trepadoras alterarían la sensibilidad de las células de Purkinje a las entradas procedentes de las musgosas. En contraposición a la teoría cerebelar, Miles y Lisberger, en 1981, han propuesto una teoría alternativa, según la cual los cambios plásticos producidos en el circuito ocurrirían principalmente a nivel del tronco del encéfalo, siendo el cerebelo una estructura necesaria durante la adquisición, pero no durante la retención del aprendizaje motor. Numerosos resultados experimentales han apoyado ambas hipótesis (Gruart y col., 1994a, b, 1995; Ito, 1982; Miles y Lisberger, 1981; Yeo y Hardiman, 1992).

Si sometemos a un animal experimental a la potenciación o cancelación del reflejo vestibulo-ocular por largos periodos de tiempo se pueden observar cambios plásticos en la salida motora respecto a la entrada vestibular (rotaciones de la cabeza en la oscuridad). Para esto, en muchos casos se utilizan lentes de aumento o disminución de las imágenes visuales. Estas lentes causan la impresión de aumentar o disminuir el movimiento relativo de los objetos respecto a la cabeza durante movimientos de la cabeza. Estudios de plasticidad en el reflejo vestibulo-ocular han mostrado la existencia de un circuito de latencia corta, no modificable, y un circuito de

latencia larga, modificable (Lisberger, 1984). Aunque hasta el momento no exista un claro consenso respecto al papel del cerebelo en el aprendizaje motor, sí se ha podido comprobar que todas las poblaciones neuronales estudiadas en las que se han observado cambios en la respuesta fisiológica tras el aprendizaje, presentan una intensa entrada inhibitoria desde el flóculo del cerebelo (Langer y col., 1985b; Lisberger y Miles, 1980; Partsalis y col., 1995b), así como información procedente, directa o indirectamente, del nervio vestibular. Lisberger y Miles (1980) han descrito un grupo neuronal localizado en el núcleo vestibular medial que presenta cambios en su respuesta fisiológica tras producirse cambios plásticos en el reflejo vestibulo-ocular horizontal. De igual forma, Partsalis y col. (1995a) demostraron que neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan respuestas diferentes durante rotaciones sinusoidales de la cabeza en la oscuridad dependiendo del estado de ganancia del reflejo (animal adaptado a alta o baja ganancia comparado con el animal no adaptado).

1.6 Importancia de la porción dorsal del núcleo Y en la ejecución y adaptación del reflejo vestibulo-ocular

1.6.1 En el animal no adaptado

Fuse (1912) hizo una primera descripción del núcleo Y de los núcleos vestibulares. Más tarde, estos estudios fueron ampliados por Brodal y Pompeiano (1957). El núcleo Y de los núcleos vestibulares está situado caudal al núcleo vestibular superior, ventral al núcleo dentado del cerebelo y dorsal al cuerpo restiforme. El núcleo Y se puede dividir en una porción dorsal, que recibe entradas inhibitorias del flóculo del cerebelo y proyecta al núcleo del motor ocular

común contralateral, y una porción ventral, que recibe entradas de los órganos otolíticos y no presenta inhibición directa desde el cerebelo.

Las neuronas localizadas en la porción dorsal del núcleo Y establecen contacto monosináptico con motoneuronas del recto superior contralateral y oblicuo inferior contralateral (Carpenter y col., 1990; Carpenter y Cowie, 1985; Graybiel y Hartweg, 1974; Highstein, 1973; Sato y Kawasaki, 1987; Steiger y Büttner-Ennever, 1979; Tomlinson y Robinson, 1984). La contracción del músculo oblicuo inferior produce movimientos oculares ascendentes y temporales (abducentes). Por el contrario, la contracción del músculo recto superior produce movimientos oculares hacia arriba y nasales (adducentes). Así, la activación conjunta de este par de músculos produce un movimiento hacia arriba (ver **figura 1**). Chubb y Fuchs (1982) comprobaron que la estimulación eléctrica en el núcleo Y dorsal produce movimientos oculares ascendentes.

La porción dorsal del núcleo Y esta especialmente relacionada con la ejecución del reflejo vestibulo-ocular vertical. Neuronas en la porción dorsal del núcleo Y reciben información concerniente a la velocidad ocular, velocidad de la cabeza y, en muchas ocasiones, a la posición del ojo en su órbita. La señal de velocidad ocular llega a estas neuronas a través de las entradas inhibitorias del flóculo del cerebelo (Langer y col., 1985b; Partsalis y col., 1995a, b). No se conoce con certeza el tipo de señal vestibular que alcanza a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, aunque experimentos llevados a cabo por Yamamoto y col. (1986) demostraron la existencia de una ruta bisináptica en el gato, que comunica el nervio vestibular con la porción dorsal del núcleo Y.

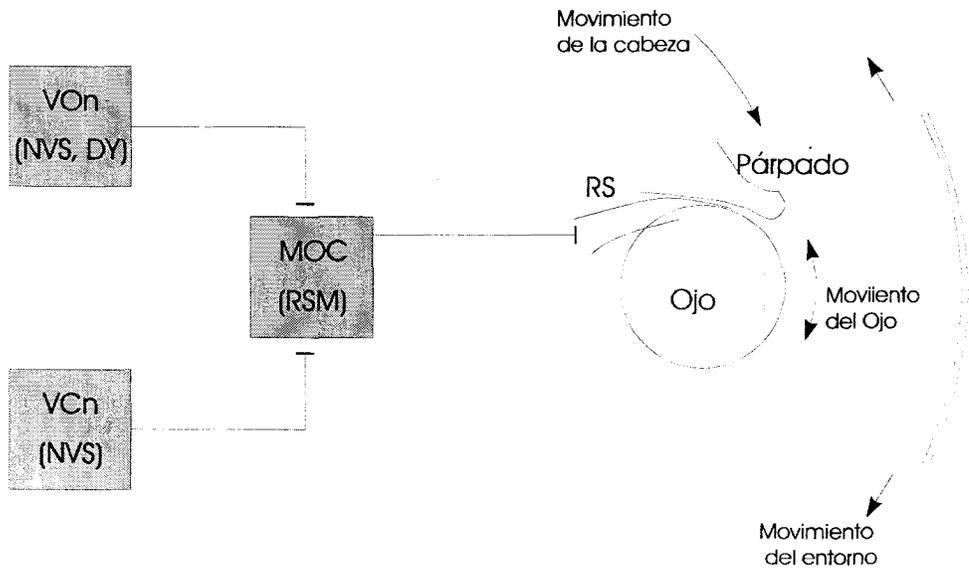
Partsalis y col. (1995a), en el mono ardilla, así como trabajos previos por Chubb y Fuchs (1982) en el gato, han demostrado que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y procesan información relacionada con el movimiento de los ojos en el espacio. De este modo, estas

neuronas son indicadores de la velocidad de los ojos respecto a un objeto inmóvil exterior al animal.

La existencia en el circuito del reflejo vestibulo-ocular de neuronas con señal indicativa de la velocidad de los ojos en el espacio es sumamente importante para la buena ejecución del reflejo. El papel desempeñado por este tipo neuronal se hace patente durante la ejecución del reflejo en condiciones de estimulación visuo-vestibular (**figuras 8 y 9**).

Los núcleos oculomotores reciben información de la velocidad de la cabeza y velocidad de los ojos respecto a la cabeza, principalmente a través de neuronas localizadas en los núcleos vestibulares (Chubb y Fuchs, 1982; Tomlinson y Robinson, 1984). Con estos dos tipos de información, el sistema oculomotor sería incapaz de ejecutar correctamente una cancelación o una potenciación del reflejo vestibulo-ocular (**figura 8**). Hasta el momento, no se ha descrito ningún tipo de conexión axo-axónica en las proyecciones a los núcleos oculomotores. Así, en condiciones de estimulación visuo-vestibular, en las que la ganancia del reflejo es mayor o menor que 1 (potenciación o cancelación del reflejo vestibulo-ocular), es de suponer que los núcleos oculomotores deben recibir una señal de signo opuesto a la procedente de las neuronas que llevan señal de velocidad de la cabeza (Chubb y Fuchs, 1982). De esta manera, durante cancelación del reflejo vestibulo-ocular, la señal de movimiento de la cabeza que alcanza a las motoneuronas debe compensarse por otra señal de signo contrario (**figura 8 y 9**). Adicionalmente, durante potenciación del reflejo, la señal de velocidad de la cabeza deberá ser potenciada por una señal del mismo signo (**figura 8 y 9**).

Como se refleja en la **tabla** de la **figura 8**, para la buena ejecución del reflejo vestibulo-ocular durante ganancias diferentes a 1 es imprescindible la existencia de una vía adicional que contenga una señal de velocidad de los ojos en el espacio. Tal señal es proporcionada en el reflejo vestibulo-ocular vertical por neuronas del núcleo vestibular superior (mitad caudal) y por las



Rotación de la cabeza hacia abajo en Luz

	RVO en Luz	Cancelación	Potenciación
VC	Hacia Abajo	Hacia Abajo	Hacia Abajo
VCn	Aumentan su tasa de Disparo.	Aumentan su tasa de Disparo	Aumentan su tasa de Disparo
VOEn	No modulan	Disminuyen su tasa de Disparo	Aumentan su tasa de Disparo
VO	Hacia arriba (G=1)	Cero (G=0)	Hacia arriba (G=2)

Figura 8. En la parte superior de la figura se representan de forma esquemática, para el caso del reflejo vestibulo-ocular vertical, las conexiones desde los núcleos premotores al núcleo del motor ocular común (motoneuronas del recto interno) y finalmente a la musculatura extraocular (representada en este diagrama únicamente por el músculo recto superior, por motivos de simplicidad). Abajo se muestra una tabla que indica las características de disparo de cada tipo neuronal y la dirección del movimiento ocular durante movimientos descendentes de la cabeza (corresponde al tiempo señalado por la flecha en la **figura 9**). Abreviaciones: DY, porción dorsal del núcleo Y; III, núcleo del motor ocular común; RVO, reflejo vestibulo-ocular; NVS, núcleo vestibular superior; RS, músculo recto superior; RSM, motoneuronas del músculo recto superior; VC, velocidad de la cabeza; VCn, neuronas premotoras con señal de velocidad de la cabeza; VO, velocidad de los ojos; VOEn, neuronas con señal de velocidad de los ojos en el espacio.

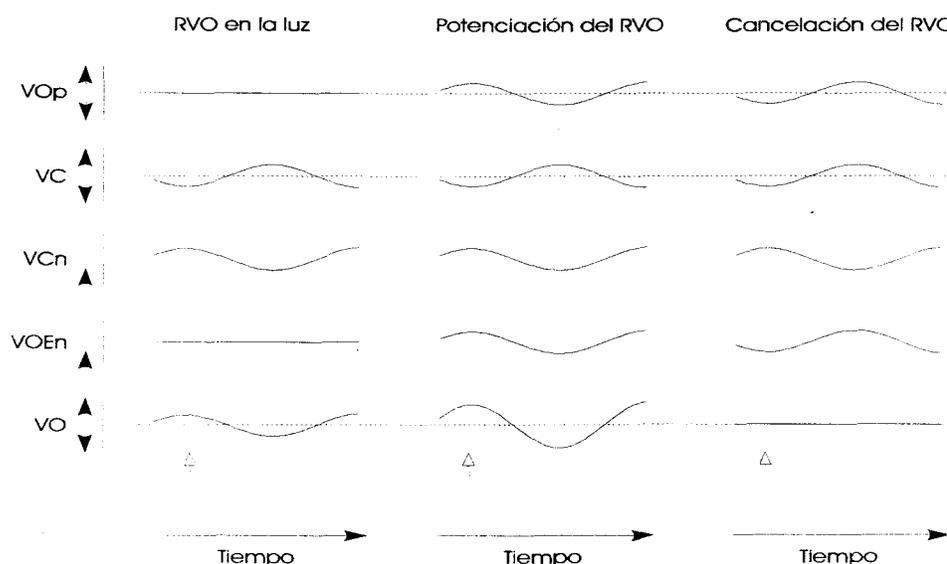


Figura 9. Respuesta de las neuronas de los núcleos premotores y del ojo durante diferentes tipos de estimulación visuo-vestibular. De arriba a abajo se muestra: i) velocidad del sistema de estimulación optocinético, en grados por segundo; ii) velocidad de la cabeza, en grados por segundo; iii) respuesta de las neuronas con señal de velocidad de la cabeza, en potenciales de acción por segundo; iv) respuesta de las neuronas con señal de velocidad de los ojos en el espacio, en potenciales de acción por segundo; v) velocidad de los ojos en su órbita, en grados por segundo. La línea discontinua marca velocidad cero. Las flechas en los dos trazos superiores y en el inferior indican movimientos ascendentes o descendentes del sistema optocinético, de la cabeza, o de los ojos. Abreviaciones: G, ganancia del reflejo vestibulo-ocular; VC, velocidad de la cabeza; VCn, neuronas premotoras con señal de velocidad de la cabeza; VO, velocidad de los ojos respecto a la cabeza; VOEn, neuronas premotoras con señal de velocidad de los ojos en el espacio; Vop, velocidad del sistema optocinético; RVO reflejo vestibulo-ocular.

neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (Partsalis y col., 1995a, b; Zang y col., 1993b, 1995a, b).

1.6.2. En el animal adaptado.

Si el mono ardilla se somete a potenciación o cancelación del reflejo vestibulo-ocular por un periodo de varias horas, se pueden observar cambios plásticos en el circuito de dicho reflejo. Estos cambios se pueden estimar midiendo la ganancia del reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad, antes y después del proceso de adaptación.

La respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación vestibular en la oscuridad también sufre cambios tras la adaptación del reflejo a alta o baja ganancia. Estos cambios se corresponden con los cambios observados en la expresión motora del reflejo. Así, Partsalis y col. (1995a) han descrito cambios en la ganancia de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y paralelos a los cambios en la ganancia del reflejo vestibulo-ocular tras un periodo de adaptación de 2 a 3 horas (potenciación o cancelación del reflejo vestibulo-ocular). Periodos de adaptación mayores suponen cambios más drásticos en la respuesta de las neuronas del núcleo Y dorsal.

Los cambios observados en la porción dorsal del núcleo Y corresponden a alteraciones en la fase de modulación de sus neuronas respecto a los movimientos de la cabeza durante adaptación del reflejo a baja ganancia, o alteraciones en la ganancia de la neurona (medida en potenciales de acción/grado/segundo) durante adaptación a alta ganancia del reflejo. Partsalis y col. (1995) otorgan a la salida del núcleo Y un papel preponderante en la adaptación del reflejo vestibulo-ocular vertical.

Debido a la naturaleza de las entradas sinápticas al núcleo Y dorsal, entrada inhibitoria del cerebelo y entrada vestibular, no se puede determinar si el cambio observado en la respuesta del núcleo Y dorsal se debe a cambios en las células de Purkinje que inhiben sinápticamente al núcleo Y, en su entrada vestibular, o en el propio núcleo Y. Por esta razón, registros electrofisiológicos en las células de Purkinje del cerebelo han mostrado resultados contradictorios. Lisberger y col. (1994 b, c) no encontraron un cambio significativo en la respuesta de las células de Purkinje tras adaptación del reflejo vestibulo-ocular, mientras que Lindel y Connor (1995) describieron depresión a largo plazo en la corteza del cerebelo (en la sinapsis de la célula de los granos sobre la célula de Purkinje).

Por todo lo indicado, consideramos que es sumamente importante conocer la naturaleza de las entradas vestibulares y del cerebelo al núcleo Y antes de desarrollar una hipótesis de trabajo. Una vez identificadas y estudiadas estas entradas vestibulares estaremos más cerca de entender cómo y dónde ocurren los cambios plásticos en el circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical en los que participa el núcleo Y dorsal.

El trabajo desarrollado en esta tesis doctoral tiene como objetivo principal esclarecer la naturaleza de las señales aferentes vestibulares al núcleo Y dorsal en el mono ardilla. Tomando como base trabajos previos en el gato (Sato y Kawasaki, 1987) y en el *Macaco rhesus* (Yamamoto y col., 1986) se ha tratado de identificar la naturaleza de la vía vestibular, mono o polisináptica, a la porción dorsal del núcleo Y. Asimismo, se ha tratado de esclarecer si las entradas vestibulares al núcleo Y tienen su origen en un canal semicircular (canal semicircular anterior o posterior) o en varios (canales semicirculares anterior y posterior). Finalmente, se ha planteado los posibles efectos de estas entradas vestibulares en los cambios sufridos por las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la adaptación del reflejo vestibulo-ocular.

El mono ardilla (*Saimiri sciureus*) ha sido escogido como sujeto experimental debido a su fácil manejo, a su cercanía evolutiva con el ser humano y a la abundante documentación previa existente.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Procedimientos quirúrgicos y preparación del animal

Seis monos ardilla (*Saimiri sciureus*), cuatro hembras y dos machos, de pesos comprendidos entre 600 a 800 gramos se prepararon para la realización de registros electrofisiológicos extracelulares en los núcleos vestibulares.

El animal se mantuvo en ayunas durante las 12 horas previas a la operación. En todos los animales se utilizó como preanestésico ketamina fosfato, mezclado con 0,3 ml de atropina, para prevenir el exceso de secreciones en las vías respiratorias. Como anestésico se utilizó pentobartital sódico, aplicado intraperitonealmente (15 mg/Kg).

La habitación de cirugía se esterilizó antes de cada intervención quirúrgica. Así mismo, el material utilizado para la cirugía se esterilizó previamente en un autoclave a 270°C durante 20 minutos, con un periodo adicional de secado de 25 minutos. Guantes, gasas y batas estériles, cubre zapatos, gorro y máscara se exigieron a todo el personal presente en la sala de cirugía.

Previamente al comienzo de la cirugía, se afeitó por completo la cabeza del animal y la superficie se limpió con solución yodada y alcohol al 70%. Este procedimiento disminuyó el riesgo de infecciones durante la cirugía y permitió una mejor visión del área de trabajo.

Durante cada una de las intervenciones quirúrgicas se monitorizó el ritmo cardíaco (220-260 pulsos por minuto), y la temperatura rectal (32-36°C). Para impedir una bajada en la temperatura corporal durante la operación, debido al anestésico, se utilizó una manta térmica que se situó debajo del cuerpo del animal. Todas las intervenciones quirúrgicas se realizaron bajo la supervisión de un veterinario de la escuela de veterinarios de Washington University en San Luis

(USA). La duración de la cirugía varió entre 2 horas y 6 horas, dependiendo del procedimiento quirúrgico.

Tras la cirugía se inyectaron 50 ml de una solución Ringer vía subcutánea, y el animal se colocó en una cámara incubadora a 32°C, por varias horas, dependiendo de la rapidez de su recuperación del anestésico. Una vez el mono despertó de la anestesia, se devolvió a su jaula.

Durante los tres días siguientes a la operación el mono se alimentó con comida blanda, comida para recién nacidos (Baby Food), y se le rellenó el bote de agua con jugo de frutas y suero de hidratación oral (Pedilate).

2.1.1 Colocación del tornillo de sujeción e implante de la bobina ocular

En un primer acto quirúrgico se colocó un tornillo de sujeción en la zona occipital del cráneo para la inmovilización del animal durante las sesiones de registro, así como una bobina ocular en el borde externo de la córnea del ojo derecho. Previo al comienzo de la cirugía se midió el cero estereotáxico, y se prepararon los instrumentos de acuerdo con la orientación deseada en el cráneo del animal.

Para la colocación del tornillo de sujeción se situó al animal, una vez anestesiado, en el aparato estereotáxico. En un primer paso, utilizando un bisturí (# 15), se cortó la piel de la zona occipital de la cabeza, retirando músculo y periosteo hasta dejar expuesto el hueso del cráneo. Una vez limpio el hueso de tejido se implantaron pequeños tornillos de acero inoxidable en el cráneo del animal. Posteriormente, se recubrió la zona de hueso y tornillos con cemento dental, construyendo un pedestal en el que se colocó el tornillo de sujeción. Los pequeños tornillos de

acero inoxidable son necesarios para la fijación del tornillo de sujeción, ya que el acrílico de por sí no se adhiere con fuerza al hueso craneal.

En el siguiente paso, utilizando el aparato estereotáxico, se colocó el tornillo de sujeción en el plano delimitado por el eje interauricular y las fosas nasales, en la posición medial del occipucio. El tornillo de sujeción se fijó a la superficie de cemento dental con una capa adicional de cemento dental. Finalmente, se dejó fraguar el cemento dental unos 10 minutos, tras lo cual se retiró el animal del aparato estereotáxico.

Para la construcción de la bobina ocular se utilizó cable de acero inoxidable aislado con teflón. La bobina se formó dando 4 vueltas completas al cable, de manera que formó un lazo de 11 mm de diámetro interno con un extremo libre de cable de aproximadamente 70 mm. La bobina ocular se situó entre la conjuntiva y la esclera del ojo, concéntricamente a la córnea (a 1 mm del limbo).

1.-Para una mejor manipulación del ojo, se realizó una cantotomía lateral, de aproximadamente 2 mm. Esto permitió tener una ventana de trabajo mayor. Para exponer el ojo, se utilizaron dos puntos de sutura en el párpado superior y otros dos puntos de sutura en el párpado inferior. Con estos cuatro puntos de sutura se expandió el campo de trabajo dejando expuesta toda la córnea así como parte de la conjuntiva circundante.

2.- Utilizando un bisturí (#15) se realizó una incisión de 0,5 cm a nivel supraorbicular. Esta incisión se utilizó mas tarde para dar salida al extremo libre de la bobina ocular.

3.-Con la ayuda de pinzas y tijeras de microcirugía, se realizó un corte en la conjuntiva del ojo de manera concéntrica a la córnea, y a una distancia de la misma de 1 a 1,5 mm. En el siguiente paso se limpió de tejido el espacio entre la conjuntiva del ojo y la esclera.

4.- El extremo libre de la bobina ocular se hizo pasar entre los tejidos periorbitales hacia arriba, con el objeto de exponerlo al exterior a través de la incisión supraorbicular realizada en el paso 2. En la zona supraorbicular la bobina ocular se fijó con un punto de sutura al tejido. Este punto de fijación proporciona estabilidad a la porción de la bobina ocular que se implanta alrededor de la córnea.

5.-Para la implantación final de la bobina ocular se realizaron cuatro puntos de sutura (#8.0) superficiales en la esclera, que sirvieron para inmovilizar la bobina ocular al globo ocular. Se colocó un punto de sutura doble en la parte superior de la bobina ocular, donde da comienzo el extremo libre. Los restantes puntos de sutura se colocaron en posiciones laterales y ventrales a la córnea.

6.- Finalmente, el extremo libre de la bobina ocular, situado por encima de la ceja del animal, se volvió a pasar por debajo de la piel, a la altura del hueso, hasta la porción occipital del cráneo. Allí quedó expuesto al exterior, por encima del cemento dental, donde se soldó a un conector, cubriéndose con una capa adicional de cemento dental.

Una vez seco el cemento dental, se comprobó el estado de la bobina ocular usando un voltímetro. Los problemas que pueden aparecer tras el implante de la bobina ocular son, o bien la rotura del cable de acero, o bien la pérdida de su cubierta de aislamiento. En condiciones óptimas

el cable debe tener una resistencia de 30 Ω , y una resistencia infinita cuando se compara con la piel húmeda del animal, lo que confirma que el cable de acero conserva su aislamiento.

Los cuidados postoperatorios incluyeron un seguimiento periódico de la evolución del animal durante los 10 días siguientes a la operación. Se suministraron intramuscularmente antibióticos de amplio espectro (ampicilina, penicilina o cloranfenicol) durante los 7 días posteriores a la operación. Además de los antibióticos suministrados intramuscularmente, durante los tres días siguientes a la operación se aplicó tres veces al día una pomada ocular compuesta por una mezcla de antibióticos y corticoesteroides. Esta pomada ocular se sustituyó posteriormente por otra pomada sin esteroides que se utilizó durante 7 días (tres veces al día).

En todos los casos, tras un período postoperatorio de 2 semanas, el animal se encontró recuperado del trauma de la operación (conjuntiva retraída, descenso de la posible inflamación en el ojo, y presencia de comportamientos normales).

2.1.2 Experimentos de estimulación en el nervio del VIII par craneal

Dos monos hembra (monos A y B) y un mono macho (mono C) se utilizaron en este experimento.

2.1.2.1 Implantación de la cámara de registro

A cada uno de los monos se le implantó una cámara de registro en el lado izquierdo del cráneo. Esta cámara de registro consistió en un cilindro hueco, de acero inoxidable, con un

diámetro interno de 12 mm. La cámara de registro se colocó en el cráneo del mono, con una inclinación mediolateral de 15 grados, y con su centro dirigido hacia una zona intermedia entre el núcleo del motor ocular externo y la porción dorsal del núcleo Y. El hueso inmediatamente por debajo de la cámara de registro se retiró previamente a la implantación de la misma. De esta manera, la cámara de registro permitió un acceso directo al sistema nervioso central. La duramadre, sin embargo, se dejó intacta para disminuir el riesgo de infecciones. Para la fijación de la cámara de registro al cráneo del mono se utilizaron, al igual que para la sujeción del tornillo de fijación, pequeños tornillos de acero inoxidable y cemento dental.

Una vez seco el cemento dental (10 minutos después de su preparación), el espacio interno de la cámara se llenó con solución Ringer estéril, a la que se añadió un par de gotas de cloranfenicol. Finalmente, una tapadera de acero inoxidable, y una lámina de silicona inerte, permitieron sellar el extremo del cilindro abierto al exterior.

El día siguiente a la operación, el mono se sentó en la silla de primates y con la cabeza inmovilizada por el tornillo de sujeción, se reemplazó la solución Ringer del día anterior por una nueva. Tras esta operación de limpieza del contenido de la cámara de registro, ésta se volvió a cerrar herméticamente para disminuir el riesgo de infecciones. Tras esta primera operación de limpieza, el contenido de la cámara de registro se limpió al principio y fin de cada sesión de registro, hasta que se sacrificó el animal.

2.1.2.2 Implantación de los electrodos de estimulación en el oído interno

Dos semanas más tarde, y una vez el animal se recuperó de la cirugía de implante de la cámara de registro, se implantó crónicamente un electrodo bipolar en el espacio perilinfático de

ambos oídos internos. Como cátodo se utilizó un cable de plata (100 μm de diámetro), pelado 1 mm en la punta, y clorurado. Como ánodo se utilizó un cable de plata (100 μm de diámetro) terminado en una punta esférica de 1mm de diámetro sin aislamiento. Para esta operación se utilizó un microscopio de disección con conexión a un monitor externo.

Para exponer el oído medio se utilizó una aproximación post-auricular, como se describe en el manual de Mirko (1993). Esta técnica permite el acceso al oído medio sin necesidad de atravesar el hueso temporal o la membrana timpánica (**figura 10**).

1.- Con un bisturí (#15), se realizó una incisión paralela a la línea de la oreja, de aproximadamente 2 cm de longitud, y a una distancia de 5 mm del margen posterior de la oreja (**figura 10A**).

2.- A continuación, se expuso el hueso temporal. El siguiente paso consistió en separar el tejido del hueso temporal hasta alcanzar el borde posterior del canal del oído externo (**figura 10A y B**).

3.- Tras encontrar el meato auditivo externo, se separó cuidadosamente el hueso del canal del tejido externo que forma el canal auricular. El tejido externo del hueso se separó hasta llegar a la membrana timpánica. Entonces, de manera muy cuidadosa se siguió limpiando el hueso, replegando el tejido externo hacia dentro del canal. Finalmente se abrió una pequeña ventana de 1,5 a 2 mm en dirección al oído medio (**figura 10B y C**).

4.- A través de la ventana abierta en el paso anterior, se localizó la posición de la ventana oval y de la ventana redonda. La ventana oval se identificó siguiendo la cadena de huesillos del oído medio.

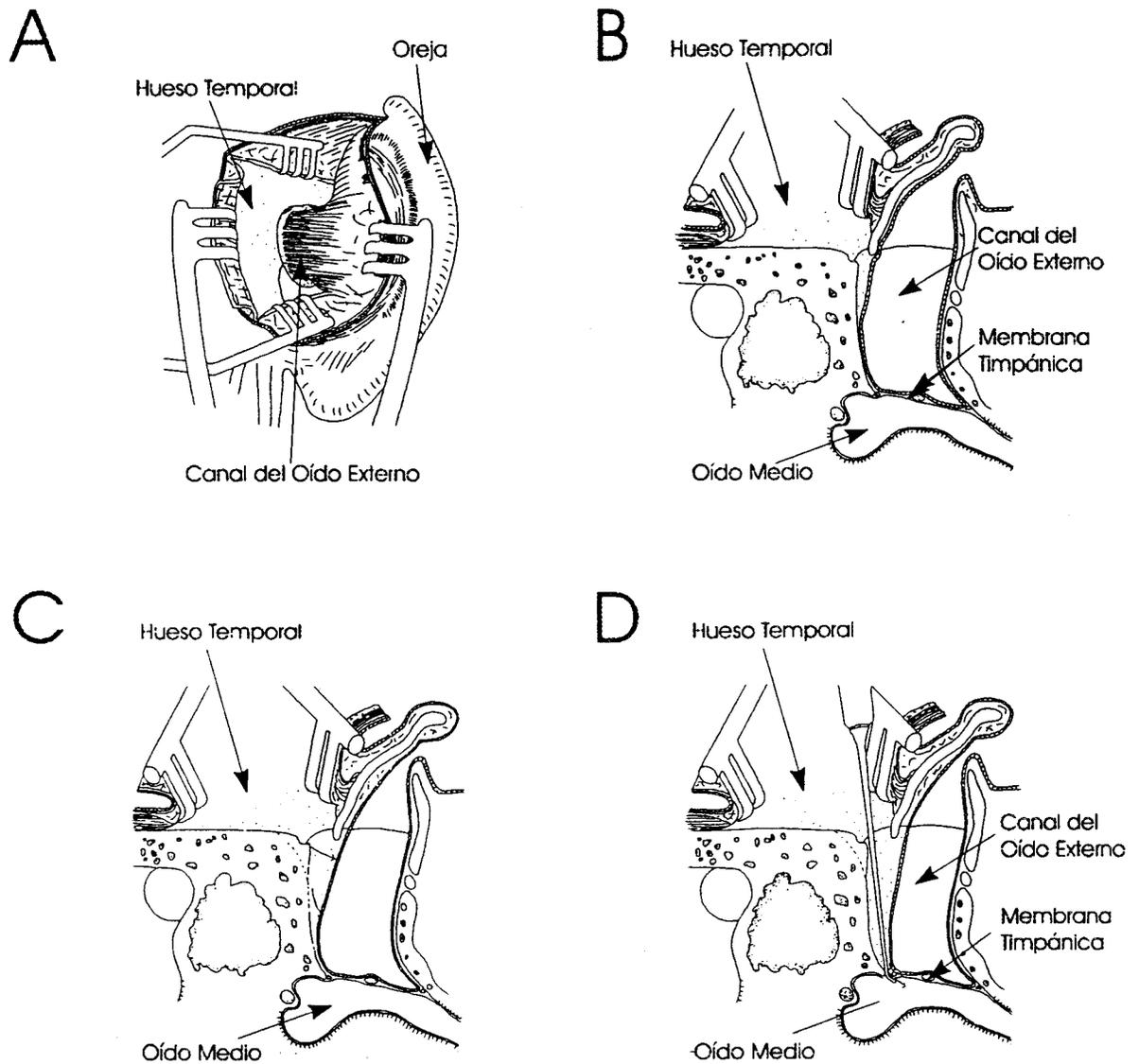


Figura 10. Procedimiento seguido para acceder al oído medio del animal durante la cirugía de implante del electrodo bipolar en el oído interno. En A, se presenta una visión posterior de la oreja, mostrando el hueso temporal y el canal del oído externo. En B y C la pared del canal del oído externo se separa del hueso. En D, se separa del hueso la parte final de la pared del canal, donde está situada la membrana timpánica. Los dibujos están tomados del manual de Mirkos (1993).

5.- El electrodo activo o cátodo se implantó en el promontorio del hueso del oído interno (un lugar intermedio entre la ventana oval y la ventana redonda). Para ello con la ayuda de un pequeño punzón puntiagudo (de punta triangular), se perforó el hueso del oído interno hasta obtener un orificio de igual tamaño al diámetro del electrodo (100 μm). Una vez realizado el orificio, el electrodo se insertó a su través unos 0,5 mm - 1mm hacia el espacio endolinfático. Esta sería la posición final del electrodo que actuó como cátodo. El ánodo, por el contrario, se dejó libre en el espacio del oído medio (**figura 11**).

6.- Ambos electrodos se fijaron finalmente al hueso temporal con ayuda de un pequeño tornillo de acero inoxidable y cemento dental. Los cables de plata se pasaron posteriormente por debajo de la piel hasta la zona occipital del cráneo, donde se soldaron a un conector.

7.- Finalmente se reconstruyó el meato externo con cuatro puntos de sutura (#8,0), así como la incisión en la zona posterior de la oreja (#6,0). En todas las operaciones, para garantizar que el canal del oído externo retomase su forma original, y no se cerrase, se introdujeron bolitas de algodón, impregnadas con antibiótico y corticoesteroides, desde el orificio externo del canal exterior.

Tras una semana de recuperación, se comprobó el funcionamiento del electrodo, utilizando para ello pulsos de estimulación no mayores de 100 μA , durante 0,2 s, y observando los movimientos oculares horizontales generados tras la estimulación. La estimulación del oído interno produjo movimientos oculares de ambos ojos dirigidos hacia el lado contralateral al sitio de estimulación. Mayor información sobre esta técnica de estimulación crónica del nervio vestibular se puede obtener en Golberg y col. (1987).

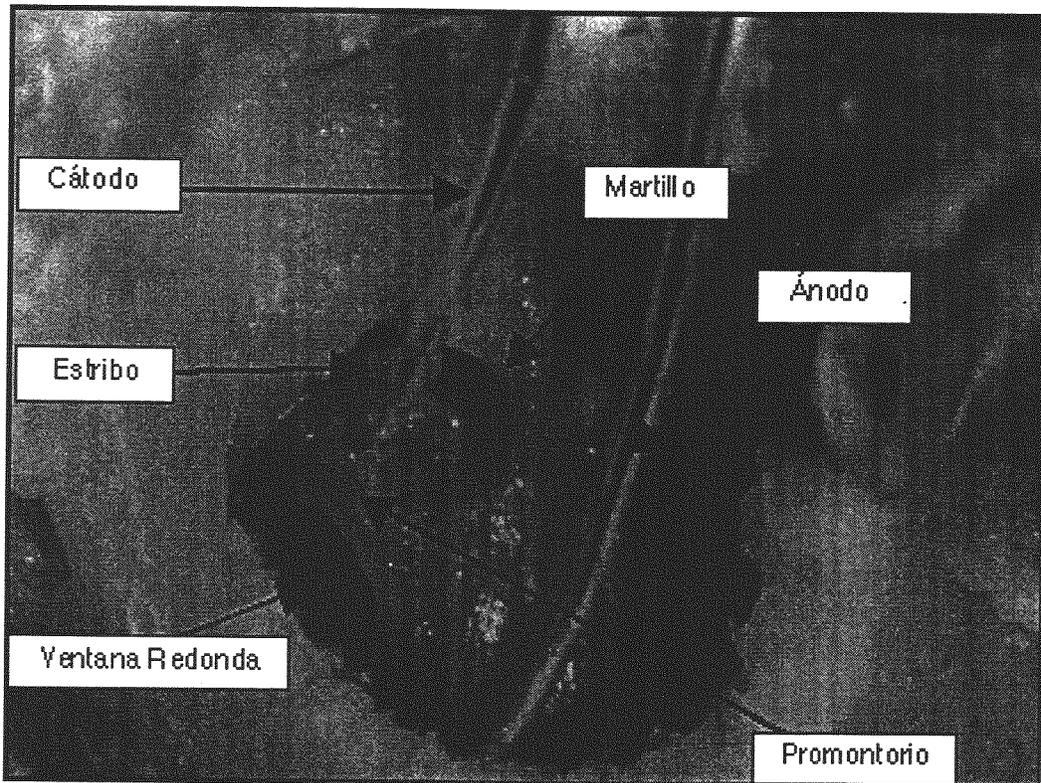


Figura 11. Posición final de los electrodos de estimulación en el oído interno. El cátodo se coloca en el oído interno, a través de un orificio perforado en el promontorio del hueso. El ánodo está situado en el oído medio.

2.1.3 Experimentos de estimulación en la porción dorsal del núcleo Y

Para este experimento se utilizó una hembra y un macho de mono ardilla (monos G y E respectivamente). En una primera cirugía se implantaron el tornillo de fijación y la bobina ocular, como ya se ha descrito. Tras dos semanas de recuperación, los animales se volvieron a colocar en el aparato estereotáxico para el implante de dos cámaras de registro.

En cada uno de los monos utilizados para este experimento se colocó una cámara de registro dirigida hacia el núcleo Y homolateral (izquierdo). El procedimiento utilizado, así como la orientación de la cámara de registro, fue similar al empleado para la implantación de la cámara de registro en los monos utilizados en el experimento de estimulación en el nervio vestibular. Adicionalmente, en estos animales se colocó una segunda cámara de registro en la mitad derecha del cráneo, para el registro electrofisiológico en el núcleo vestibular superior contralateral (izquierdo). El pequeño tamaño del cráneo de estos animales no permitía la colocación de las dos cámaras en el mismo lado del cráneo. Así, la primera se colocó con su centro orientado a una posición medial entre el núcleo Y y el núcleo del motor ocular externo homolaterales, inclinada 15 grados respecto al eje medio-lateral, mientras que la segunda cámara de registro se colocó con su centro orientado hacia el núcleo vestibular medial contralateral, inclinada 20 grados en el plano antero-posterior y 50 grados en el plano medio-lateral.

2.2 Técnicas de estimulación vestibular y optocinética

En la mayor parte de los casos, antes de comenzar el registro electrofisiológico se suministró anfetamina (1 mg), vía oral, con el objeto de mantener al animal despierto durante la sesión de registro (Partsalis y col., 1995a, b; Zang y col., 1993a, b, 1995).

Para la inmovilización del animal se utilizó una silla especialmente diseñada (Partsalis y col., 1995a, b), normalmente llamada silla de mono. Esta silla encerró el cuerpo del animal dejando la cabeza expuesta a través de un agujero situado en la parte superior de la misma. La cabeza firmemente se inmovilizó mediante el tornillo de sujeción. Finalmente, la silla se fijó a una mesa rotatoria servocontrolada (**figura 12**).

Los parámetros de estimulación vestibular y optocinética se controlaron por un generador de ondas (WaveTek), el cual permitió variar la señal de salida en forma (sinusoidal, en rampas, etc.), frecuencia y amplitud, dependiendo de las necesidades experimentales. La salida del generador de ondas se pasó posteriormente por un amplificador y finalmente a los motores eléctricos de la silla y del sistema optocinético. La frecuencia utilizada para la estimulación vestibular u optocinética fue en todos los casos de 0,5 Hz a 1 Hz, con una velocidad cero a pico de 30 a 65 grados por segundo.

2.2.1 Estimulación vestibular

Para la estimulación vestibular se utilizó una mesa rotatoria (Contraves-Goertz). El eje de rotación de la mesa se colocó perpendicular al plano de la tierra. El sistema utilizado se muestra esquemáticamente en la **figura 12**. La plataforma de registro se montó en el extremo superior de

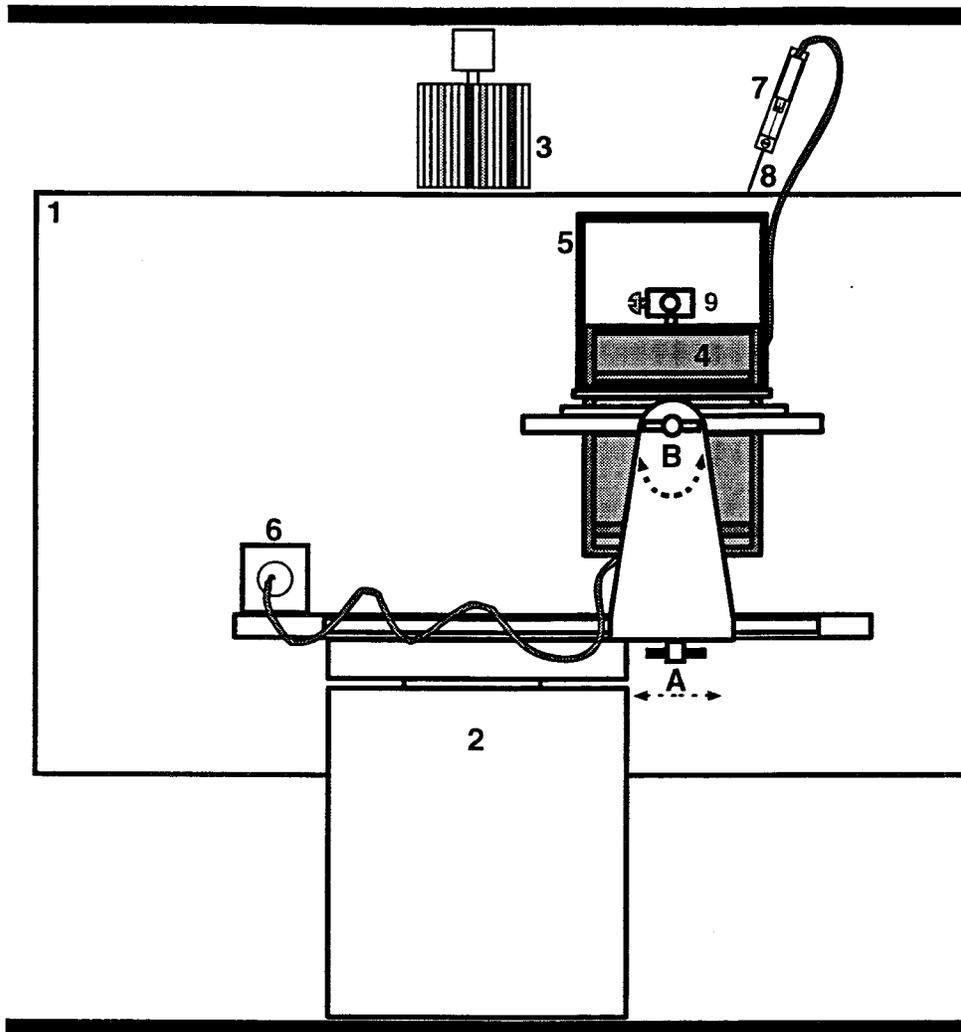


Figura 12. Diagrama representativo del sistema de registro y de estimulación visuo-vestibular. 1, pantalla de proyección; 2, mesa giratoria; 3, cilindro transparente de bandas coloreadas (estas bandas se proyectan sobre la pantalla, 1); 4 silla para la acomodación del mono; 5, cubo para la generación de campo magnético; 6, motor eléctrico; 7, micromanipulador hidráulico; 8 tubo guía; 9, plataforma para la fijación del tornillo de sujeción; A y B representan tornillos o puntos de fijación de la silla. Las flechas en A y B indican el tipo de movimiento en cada punto. A nos permite alejar o acercar la silla al eje de giro siguiendo un plano ortogonal al mismo. B determina la inclinación de la silla respecto al eje de giro.

la mesa (número 2, en la **figura 12**). Sobre esta plataforma se fijó el sistema de soporte de la silla de mono (punto A, en la **figura 12**). El sistema de soporte permitió, no sólo instalar la silla sobre la plataforma, sino también colocarla en diferentes orientaciones respecto al eje de giro de la mesa (punto B, en la **figura 12**).

Para la generación del reflejo vestibulo-ocular horizontal el animal se colocó sobre el eje de giro de la mesa (**figura 12**). El animal se colocó verticalmente (punto B en la **figura 12**), y el sistema de soporte se desplazó hasta que el eje de giro pasó sobre la vertical del animal (punto A, en la **figura 12**). En cambio, para la generación del reflejo vestibulo-ocular vertical la cabeza del animal se colocó sobre el eje de giro de la mesa, con el animal inclinado 90 grados sobre la vertical (**figura 12**). La silla se colocó perpendicularmente al sistema de soporte (punto B, en la **figura 12**), y el sistema de soporte se desplazó, alejándose del eje de giro de la mesa, hasta que el eje de giro coincidió con el centro de la cabeza del animal. En condiciones ideales, el eje de rotación debe pasar a través de ambos oídos internos, de manera que los principales responsables del reflejo sean el canal semicircular anterior y el canal semicircular posterior.

En los experimentos presentes no se ha analizado la influencia de los órganos otolíticos. Estos podrían añadir un factor más a la salida refleja, debido a la acción de fuerzas centrífugas. Para minimizar la contaminación de nuestros registros por la estimulación de estos órganos, fue imprescindible que el eje de rotación pasase entre ambos oídos internos (reflejo vestibulo-ocular horizontal), o a través de ellos (reflejo vestibulo-ocular vertical).

2.2.2 Estimulación optocinética

La estimulación optocinética se consiguió mediante la proyección sobre una pantalla blanca situada a 75 cm del animal, de un cilindro transparente, sobre el cual estaban dibujadas una serie de bandas verticales coloreadas (azul, negro, rojo y amarillo). En el diagrama de la **figura 12** se muestra la posición de la pantalla y del cilindro, respecto a la mesa (número 3, en la **figura 12**). Una vez proyectadas sobre la pantalla blanca, las bandas de colores tenían una separación de 2 a 3 cm, y una anchura de 1 cm.

El cilindro transparente estaba unido por su centro al eje de un motor eléctrico. El eje de rotación del motor coincidió exactamente con el eje de rotación de la mesa. Con el giro del cilindro se consiguió el efecto de movimiento de las bandas proyectadas sobre la pantalla blanca.

2.2.3 Estimulación combinada visuo-vestibular

El motor del cilindro y de la mesa estaban controlados externamente por el mismo generador de ondas (WaveTek). La señal proveniente del generador de ondas se conectó en paralelo a dos amplificadores. Uno de los amplificadores alimentaba a la mesa mientras que el segundo alimentaba al motor del sistema optocinético. De esta manera se controló de modo independiente la amplitud y dirección del movimiento de la silla y del sistema optocinético.

Con la excepción del reflejo vestibulo-ocular en la luz, el resto de paradigmas experimentales se realizaron en la oscuridad, permaneciendo encendidas únicamente las luces de los aparatos de registro, que no interferían o distraían la atención del mono. Esto acentuó más la proyección de bandas sobre la pantalla blanca. Adicionalmente, para la estimulación vestibular en

la oscuridad, se utilizó una cortina que separaba la mesa y el sistema optocinético, del sistema de adquisición y registro. Así, durante el reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad el mono se encontró en oscuridad total, sin la interferencia de la luz de los aparatos de registro.

La cancelación y potenciación del reflejo vestibulo-ocular se indujeron mediante la utilización simultánea de estimulación optocinética y vestibular. La cancelación del reflejo vestibulo-ocular se consiguió durante rotaciones sinusoidales del aparato optocinético a la misma velocidad y dirección que la mesa (ganancia 0). La potenciación del reflejo vestibulo-ocular se consiguió durante rotaciones del aparato optocinético a la misma velocidad pero dirección opuesta a la de la mesa (ganancia 2).

En ciertas ocasiones también se intentó la inversión del reflejo vestibulo-ocular. Durante la inversión del reflejo vestibulo-ocular el sistema optocinético rotó en la misma dirección que la mesa pero a doble velocidad.

2.3 Registro de los movimientos oculares. Calibración

Para el registro de los movimientos oculares se empleó la técnica del seguimiento electromagnético de la posición ocular (Fuchs y Robinson, 1966). Cuatro bobinas metálicas, ensambladas en forma de cubo se colocaron sobre la silla del mono (número 5, en la **figura 3**). En esta posición el cubo formado por las cuatro bobinas se movió en todo instante junto con la silla de mono.

Durante el registro de los movimientos oculares se fijó el tornillo de sujeción del mono a la silla para impedir movimientos de la cabeza dentro del campo magnético generado por las

cuatro bobinas. Una vez fijado el animal a la silla, los ojos quedaron aproximadamente en el centro del campo magnético. Finalmente se ensambló el conector de la bobina ocular al sistema de detección de movimientos oculares.

Para la calibración de los movimientos oculares se consideró que la ganancia del reflejo vestibulo-ocular vertical y horizontal durante rotaciones sinusoidales de la cabeza en la luz, a 0,5 Hz y una velocidad cero a pico de 40 grados por segundo, fue igual a 1 (Paige, 1983; Bello y col., 1991). Previo a las sesiones de calibración se comprobó que el animal estaba recuperado de la cirugía de implante de la bobina ocular. La ganancia del reflejo vestibulo-ocular, tanto horizontal como vertical, se mantuvo estable a lo largo de las distintas sesiones de registro (rango: $\pm 0,07$).

2.4 Técnicas utilizadas para la estimulación eléctrica y el registro extracelular

2.4.1 Electrodo y micromanipulador

Los registros electrofisiológicos se llevaron a cabo únicamente en la mitad izquierda del tronco del encéfalo. Se utilizaron electrodos de tungsteno de 1 y 2 M Ω (Microprobe Inc., WE5003XXA, USA) para el registro extracelular en la porción dorsal del núcleo Y y en el núcleo vestibular superior. Estos electrodos estaban aislados excepto en los dos extremos terminales. En un extremo, el de registro, sólo unas pocas micras (2-8 μm) no estaban recubiertas por material aislante. En el extremo opuesto el aislante se separó manualmente, dejando aproximadamente 1 cm de tungsteno sin aislante, para su conexión al preamplificador.

El electrodo de tungsteno se introdujo a través de un tubo guía (aguja 23) de 50-60 mm de largo. El tubo guía permitió atravesar la duramadre, y en muchos casos el tentórium, acercando el electrodo a unos 5-10 mm del lugar de registro sin dañar la punta del mismo. El otro extremo del electrodo se conectó a un preamplificador (x100), y a su vez se fijó a un pistón hidráulico. El movimiento del pistón estaba controlado desde un motor eléctrico externo y conectado al mismo a través de un tubo de plástico con aceite en su interior. Con una resolución de 1 μm y alcance máximo de 15 mm, el pistón permitió empujar o retraer el electrodo dentro del tubo guía. Este sistema hidráulico (Trent Wells Inc., Motorized Hydraulic Microdrive con Mark III Controller, USA) permitió avanzar el electrodo desde una posición alejada del animal, y por lo tanto sin perturbar al mono durante la ejecución de los paradigmas de estimulación vestibular y optocinética empleados.

2.4.2 Coordenadas estereotáxicas utilizadas durante el registro electrofisiológico

La posición de cada tracto en el registro electrofisiológico a través de las cámaras de registro se controló utilizando un posicionador (Two Axis Titanium Micropositioner, Trent Wells Inc., USA) que posee una escala milimétrica permitiendo conocer la posición del electrodo con una precisión de 0,1 mm. El posicionador se fijó mediante un pequeño tornillo a la cámara de registro. La orientación del posicionador respecto a la cámara de registro se mantuvo constante en todas las sesiones de registro.

El micromanipulador hidráulico utilizado no tenía ningún punto de fijación fuera del animal, sino que se fijaba al posicionador. De esta manera el registro era menos sensible a posibles movimientos de la cabeza del animal, ya que el electrodo estaba fijado a la misma.

2.4.3 Localización del núcleo del motor ocular externo

Se realizó un máximo de tres tractos por día, dejando en la mayoría de los casos un día de descanso entre cada sesión de registro. Esta limitación en el número de tractos se debe al pequeño tamaño del animal, menor de 1 kg, y al peligro de lesiones graves en el sistema nervioso central ocasionadas por la penetración de los electrodos.

En los primeros días de registro se identificó el núcleo del motor ocular externo izquierdo de acuerdo con la características de disparo de estas motoneuronas (Baker y Spencer, 1981; Delgado-García y col., 1986). Una vez identificado, sus coordenadas sirvieron de punto de referencia para la localización del resto de estructuras en el tronco del encéfalo; núcleo vestibular superior y núcleo Y. En general, el núcleo del motor ocular externo se encontró situado aproximadamente a 1 mm medial y 1 mm anterior tomando como origen de coordenadas el centro de la cámara de registro.

En los registros extracelulares, la porción dorsal del núcleo Y se encontró a 2-2,5 mm posterior y 2,5 mm lateral del núcleo del motor ocular externo y aproximadamente a 1 mm dorsal a éste. El núcleo vestibular superior se localizó al mismo nivel antero-posterior del núcleo del motor ocular externo, a 1,5-3 mm lateral, y aproximadamente a 1,5 mm dorsal.

2.4.4 Estimulación en el nervio del VIII par craneal y registro en la porción dorsal del núcleo Y

Los registros electrofisiológicos en la porción dorsal del núcleo Y se realizaron colocando al animal inclinado 90 grados, con el eje de giro de la mesa pasando a través de ambos oídos

internos. Con esto se consiguió estimulación vestibular y/o optocinética sólo en el plano vertical. La respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se estudió durante el reflejo vestíbulo-ocular en la luz, reflejo vestíbulo-ocular en la oscuridad, cancelación del reflejo vestíbulo-ocular, potenciación del reflejo vestíbulo-ocular y seguimiento visual (Parsalis y col., 1995). Tras la identificación de una neurona como perteneciente a la porción dorsal del núcleo Y se estudió su respuesta a la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral (animales A, B y C), u homolateral y contralateral (animal B) (**figura 13**). Para la estimulación del nervio vestibular se utilizaron pulsos cuadrados de corriente de 100 μ s de duración y 200-400 μ A de intensidad; para ello se utilizó un generador de pulsos de WP Instruments (Interval Generator, modelo 830, y Stimulus Isolator modelo 850A, USA).

Para asegurar que la corriente utilizada en la estimulación del nervio vestibular era idéntica en cada sesión de registro, el estado de las baterías del estimulador se comprobó diariamente.

2.4.5 Estimulación en la porción dorsal del núcleo Y y registro en el núcleo vestibular superior

Como se muestra en la **figura 14**, estos experimentos consistieron en dos fases o pasos: 1) identificación de la porción dorsal del núcleo Y atendiendo a su respuesta electrofisiológica; y 2) registro electrofisiológico de neuronas en el núcleo vestibular superior tras la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y.

Paso 1. Para ello se utilizó la cámara de registro situada en la parte homolateral del cráneo. Una vez conocida la posición del núcleo del motor ocular externo, las sesiones de registro

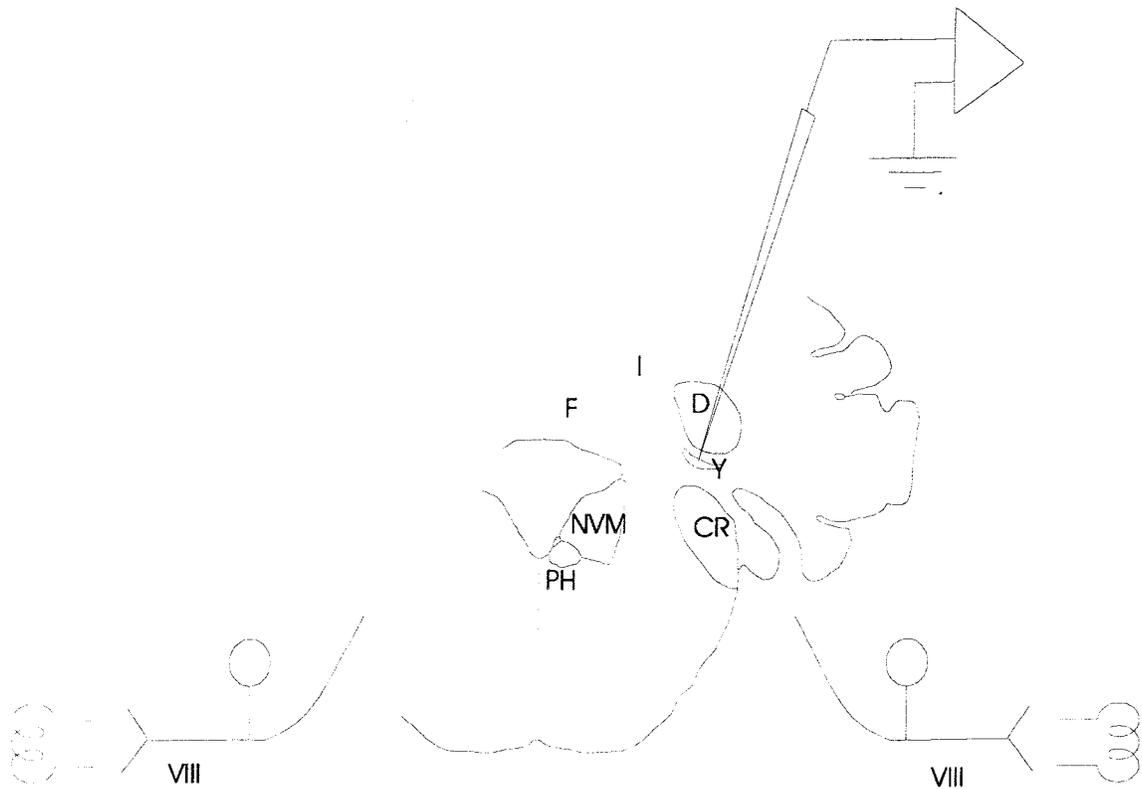


Figura 13. En esta figura se representa diagramáticamente la aproximación experimental utilizada para el registro extracelular en el núcleo Y, y la estimulación eléctrica en el nervio del VIII par craneal. Abreviaciones; CR, cuerpo restiforme; D, núcleo dentado del cerebelo; F, núcleo fastigial del cerebelo; I, núcleo interpósito del cerebelo; NVM, núcleo vestibular medial; PH, núcleo prepositus hipoglossi; Y, núcleo Y; VIII, nervio del VIII par craneal.

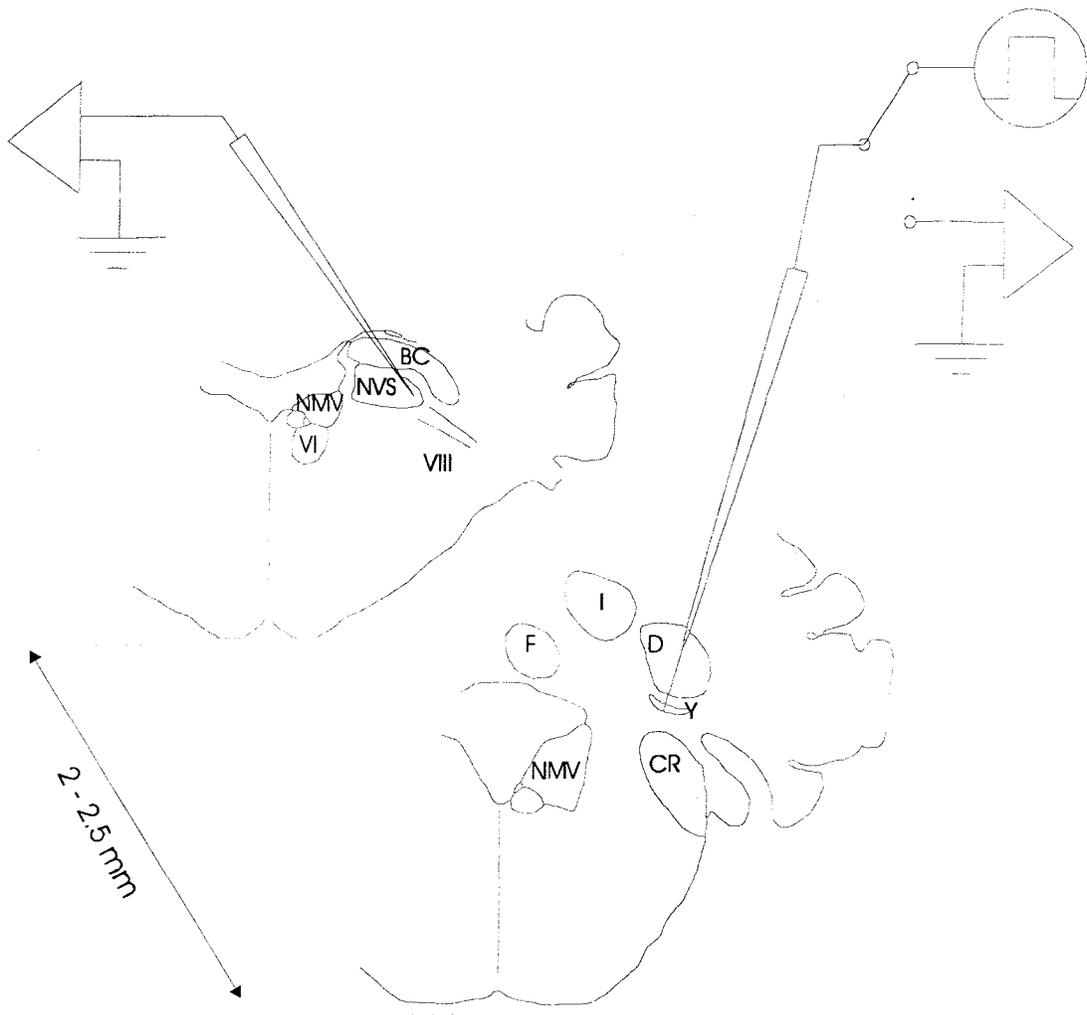


Figura 14. Aproximación experimental utilizada para el registro electrofisiológico en los núcleos vestibulares (núcleo vestibular superior y núcleo Y), y estimulación en la porción dorsal del núcleo Y. 2-2.5 mm indica la separación antero-posterior entre los sitios de estimulación y registro. Abreviaciones: BC, braquium conjuntivum; CR, cuerpo restiforme; D, núcleo dentado del cerebelo; F, núcleo fastigial del cerebelo; I, núcleo interposito del cerebelo; NVM, núcleo vestibular medial; NVS, núcleo vestibular superior; PH, núcleo prepositus hipoglossi; Y, núcleo Y; VI, núcleo del motor ocular externo; VIII nervio del VIII par craneal.

comenzaron con la búsqueda de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. En el primer paso del experimento utilizamos electrodos de tungsteno de 1 M Ω de impedancia para el registro extracelular. La identificación de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (Partsalis y col., 1995a) fue una condición necesaria para la continuación del experimento. Se realizó un máximo de tres tractos por día (cámara implantada en la mitad izquierda del cráneo del mono), y se dejó un día de descanso al animal entre dos sesiones de registro consecutivas.

Una vez localizadas las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, el electrodo se retiró 0,5 mm del lugar identificado como porción dorsal del núcleo Y. Este procedimiento permitió posteriores manipulaciones del animal sin que el electrodo dañase la zona del núcleo Y debido a movimientos de la punta del electrodo en el tejido. El electrodo colocado en la porción dorsal del núcleo Y se utilizó posteriormente como electrodo de estimulación monopolar.

Paso 2. Para el avance del electrodo colocado en la cámara dirigida al núcleo vestibular superior se utilizó un sistema manual, que permitió desplazarlo hasta una profundidad de 25 mm, con una precisión de 400 μ m/vuelta. Este micromanipulador manual, aunque menos preciso que el hidráulico, era de pequeñas dimensiones, con lo que no planteó problemas de espacio en el cráneo del animal. Al igual que con el sistema hidráulico, las coordenadas estereotáxicas se refirieron siempre respecto al centro de la cámara de registro.

El registro electrofisiológico en el núcleo vestibular superior se llevó a cabo con electrodos de tungsteno de 2,0 M Ω de impedancia, y con un máximo de dos penetraciones por cada sesión de registro. También en esta cámara de registro se utilizó la posición del núcleo del motor ocular externo izquierdo como referencia espacial para localizar posteriormente el núcleo

vestibular superior. El registro electrofisiológico en el núcleo vestibular superior, comprendió casi exclusivamente la porción antero-lateral de los núcleos vestibulares.

La activación antidrómica desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y se utilizó únicamente en aquellas neuronas del núcleo vestibular superior que presentaron cierta sensibilidad a la rotación de la cabeza. Una vez aislada una neurona en el núcleo vestibular superior con sensibilidad a la velocidad de la cabeza, el electrodo colocado a 0,5 mm de la porción dorsal del núcleo Y se reintrodujo 0,5 mm en el tejido (distancia que lo separaba de la porción dorsal del núcleo Y). Finalmente, se estimuló eléctricamente la porción dorsal del núcleo Y. La estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y consistió en pulsos cuadrados de 40 ms de duración y 50-175 μ A de intensidad.

Para la identificación antidrómica de las neuronas registradas se utilizó el test de colisión, al igual que el cálculo de sus latencias de activación. En el test de colisión se empleó como sincronizador el propio potencial de acción espontáneo de la neurona registrada en el núcleo vestibular superior. Así, variando el tiempo entre el sincronizador, potencial de acción de la neurona, y el estímulo en la porción dorsal del núcleo Y se comprobó o no la existencia de colisión en las neuronas registradas.

2.5 Métodos utilizados en la obtención y el análisis de los datos

La posición ocular, respuesta neuronal, y parámetros de estimulación (velocidad de la mesa y del optocinético) se grabaron en una cinta de vídeo, utilizando para ello un vídeo VHS y un digitalizador de 8 canales (Neurocorder, DR-890, USA). Para el registro de la posición ocular, velocidad de la mesa y velocidad del planetario la frecuencia de muestreo utilizada fue de 11

KHz, mientras que para el registro de actividad neuronal, la frecuencia de muestreo utilizada fue de 44 KHz. Sin embargo, para los estudios de activación antidrómica en el núcleo vestibular superior tras la estimulación de la porción dorsal del núcleo Y, la frecuencia de muestreo fue de 88 KHz.

La información grabada en cintas de vídeo se transfirió posteriormente a un ordenador PC, utilizando la tarjeta de adquisición 1401 plus (Cambridge Electronic Design, UK). El *software* empleado para el análisis consistió en programas especialmente diseñados para la tarjeta 1401 plus. Concretamente, Spike2 Data Capture versión 4.86, y Spike2 Data Analysis versión 4 se utilizaron para el estudio de la respuesta neuronal durante estimulación visual y vestibular. La latencia de activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y también se midió utilizando los programas antes comentados. El estudio de la activación antidrómica de neuronas del núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y se llevó a cabo utilizando el programa Signal Average versión 5.43.

2.5.1 Análisis de la sensibilidad de la neurona a la posición ocular

La sensibilidad neuronal a la posición ocular se obtuvo mediante el análisis de la regresión entre la posición ocular, durante fijaciones espontáneas en ausencia de estimulación visual o vestibular, y la frecuencia de potenciales de acción de la neurona. Se utilizó un mínimo de 20 puntos para la construcción de la gráfica.

La recta de regresión determina la relación entre el disparo de la neurona y la posición de los ojos en su órbita. La pendiente de la recta determina la sensibilidad de la neurona a la posición ocular. La ecuación utilizada para el cálculo de la sensibilidad a la posición ocular es la siguiente:

$$\text{Disparo de la neurona} = DC + (S \times PO)$$

Donde DC es el disparo basal de la neurona o la frecuencia de disparo en la posición primaria del ojo. En la gráfica sería el punto de corte con el eje de ordenadas. S es la sensibilidad de la neurona. En la gráfica, S corresponde a la pendiente de la recta de regresión, y sus unidades son potenciales de acción por grado. Finalmente, PO es la posición ocular medida en grados.

2.5.2 Análisis de la sensibilidad neuronal a la velocidad ocular y a la velocidad de la mesa

Para obtener la sensibilidad neuronal a la velocidad ocular y a la velocidad de la cabeza, se utilizaron promedios de un mínimo de 3 ciclos de rotaciones sinusoidales de la mesa o del sistema optocinético. La velocidad de los ojos se obtuvo de la derivada de los registros de posición ocular. Los movimientos oculares rápidos (movimientos sacádicos) se eliminaron automáticamente mediante el programa de análisis (**figura 15**). En cada ciclo, el espacio correspondiente a los movimientos sacádicos no se incluyó en el promedio. Una vez obtenido el promedio del movimiento ocular tras varios ciclos de rotación sinusoidal, la ganancia y la fase de la neurona se calcularon obteniendo el componente principal de la transformada de Fourier. La ganancia de la neurona se obtuvo dividiendo la amplitud de la modulación de la neurona (potenciales de acción por segundo), por la amplitud de modulación de la mesa, o del sistema optocinético durante seguimiento visual (grados).

$$\text{Ganancia de la neurona} = (\text{Potenciales de acción/segundo})/(\text{grados/segundo})$$

El desfase de la neurona se obtuvo comparando la fase de la neurona con la fase de la mesa, o del ojo (durante seguimiento visual).

$$\text{Desfase de la neurona} = \text{Fase de la neurona (grados)} - \text{Fase de la mesa (grados)}$$

La sensibilidad neuronal a los movimientos sacádicos no fue objetivo de este estudio. El disparo de la neurona se representó como frecuencia de disparo instantánea, en potenciales de acción por segundo. La porción del registro correspondiente al tiempo donde se ejecuta un movimiento ocular sacádico se eliminó del registro de la actividad neuronal. Para ello utilizamos como referencia el registro de velocidad ocular (**figura 15**).

Algunas células presentaron sensibilidad a la posición ocular, lo que resultó en una mayor o menor modulación durante movimientos oculares. En estos casos la respuesta debida a la posición ocular, obtenida previamente utilizando el análisis de regresión, fue sustraída en cada ventana de cada ciclo. La transformada de Fourier consistió, en todos los casos, de un número fijado de ventanas por ciclo de rotación sinusoidal (64), de esa manera el número de ventanas fue independiente de la duración del ciclo (durante rotaciones sinusoidales de 0,5 Hz el tamaño de ventana fue 1/32 segundos, y 1/64 durante rotaciones a 1 Hz).

2.5.3 Estudios de la latencia de activación sináptica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación del nervio vestibular

La latencia de activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se obtuvo midiendo el tiempo transcurrido desde el comienzo del pulso de estimulación hasta la activación de la neurona de la porción dorsal del núcleo Y. Para el cálculo de la latencia se utilizaron

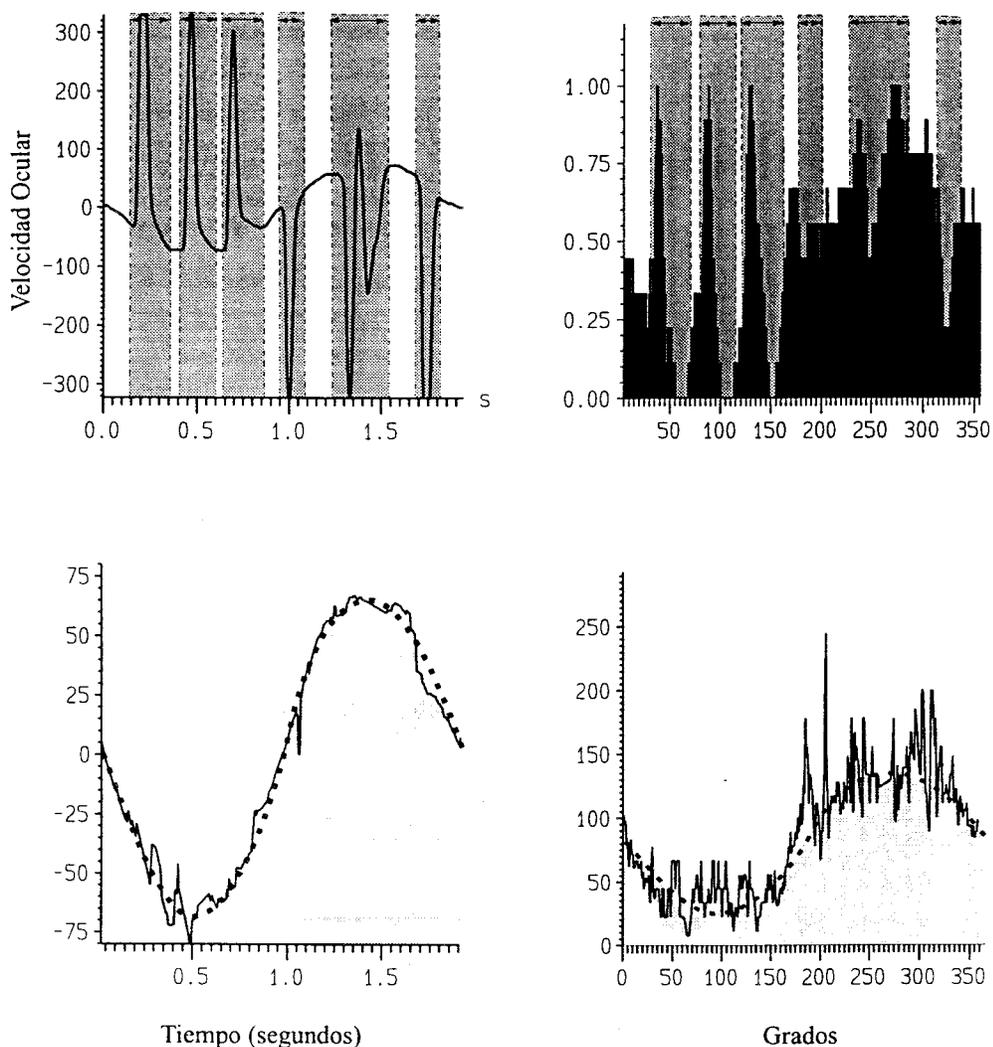


Figura 15. Esta figura ilustra el procedimiento utilizado para el análisis de la sensibilidad neuronal a la velocidad ocular. En la parte superior de la figura se representa, a la izquierda el movimiento ocular, en grados por segundo, y a la derecha el disparo de la neurona. El tiempo en el que aparece un movimiento sacádico se elimina automáticamente (barras oscuras). En la parte inferior de la figura se presenta el promedio de varios ciclos. La velocidad ocular se midió en grados por segundo, y el disparo de la neurona en potenciales de acción por segundo.

histogramas post-estímulo de 200 ms de duración y un tamaño de ventana de 0,2 ms. En la mayor parte de los casos los histogramas se construyeron utilizando 100 ensayos.

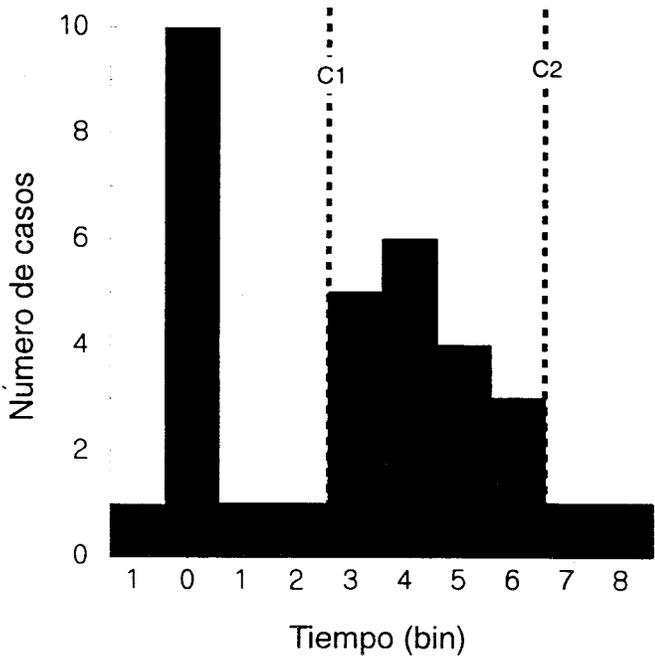
La latencia de activación de las células se obtuvo como se muestra en la **figura 16**. Los histogramas formados como consecuencia de la activación de las células de la porción dorsal del núcleo Y muestran una forma típica de distribución de Poisson, por lo que la media aritmética no es un valor representativo de la media real. La **figura 16** muestra un ejemplo del cálculo de la latencia de activación para un modelo de distribución similar a la encontrada en nuestros registros. Consideramos que la fórmula de la **figura 16**, es una buena indicación de la latencia de activación más probable para la neurona en las condiciones de estimulación empleadas en nuestro experimento.

2.5.4 Análisis de la latencia de activación antidrómica en neuronas del núcleo vestibular superior tras estimulación de la porción dorsal del núcleo Y

En los estudios de activación antidrómica de las neuronas en el núcleo vestibular superior, así como de los potenciales de campo tras la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y se utilizaron pulsos de estimulación de 40 μ s de duración y diferentes intensidades de corriente, normalmente 75 μ A.

La sesión de registro se grabó en cinta de vídeo (Neurodata Instruments, USA) de manera continua a 88 kHz. Para estos análisis se grabaron únicamente 10 ms, con un intervalo pre-estímulo de 2 a 4 ms. La latencia de activación se midió de forma manual utilizando para ello el programa Signal Average (la frecuencia de muestreo fue de 15,5 kHz).

Latencia	3	4	5	6
Peso	5	6	4	3



$$\text{Latencia de Activación} = \frac{\sum_{i=C1}^{i=C2} (L_i * P_i)}{\sum_{i=C1}^{i=C2} (L_i)}$$

$$\text{Latencia de Activación} = \frac{3*5+4*6+5*4+6*3}{3+4+5+6}$$

Figura 16. Ejemplo de distribución de Poisson del tipo mostrada por las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular. La zona de activación se elige con un par de cursores (C1 y C2).

2.6 HISTOLOGÍA

2.6.1 Inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y

Un mono ardilla hembra (animal D) de 650 gramos de peso se utilizó en estudios histológicos. Estos estudios se encaminaron hacia la descripción de las conexiones de la porción dorsal del núcleo Y, con neuronas vestibulares de primer orden. Para ello se inyectó biocitina iontoforéticamente en la porción dorsal del núcleo Y izquierdo.

El animal se sometió a dos intervenciones quirúrgicas. En una primera intervención se le implantó un tornillo de sujeción y una bobina ocular, y en una segunda intervención se le implantó una cámara de registro. Al contrario que los animales A y B, el mono D no llevó electrodos de estimulación en el oído interno. Las técnicas utilizadas para el implante de la bobina ocular y el tornillo de sujeción, así como para la colocación de la cámara de registro han sido previamente explicadas para los animales A y B.

Para el registro extracelular utilizamos electrodos de tungsteno de 2 M Ω . Al igual que en el resto de los monos (A, B, C, E y G), en un primer paso se localizó el núcleo del motor ocular externo izquierdo. Posteriormente se realizaron diferentes tractos a 2-2,5 mm posterior y 2,5 a 3,0 mm lateral del mencionado núcleo. La porción dorsal del núcleo Y se identificó al igual que en los experimentos anteriores, atendiendo a su respuesta electrofisiológica durante diferentes paradigmas de estimulación visual y vestibular.

Una vez identificado el sitio de inyección (porción dorsal del núcleo Y), el tubo guía del electrodo se sustituyó por un tubo de mayor calibre (aguja#19), y el electrodo de tungsteno se reemplazó por un electrodo de cuarzo. El electrodo de cuarzo se rellenó con una solución conductora de biocitina al 10% en líquido de Ringer. La punta del electrodo se seccionó a un diámetro de 15 μm . Este electrodo de cuarzo se conectó al pistón del manipulador hidráulico y, a través de un cable de plata introducido en la solución conductora, al sistema de registro.

El electrodo de tungsteno se utilizó durante la localización de la porción dorsal del núcleo Y, mientras que el electrodo de cuarzo sólo se empleó en el momento de la inyección del trazador. El electrodo de cuarzo se orientó exactamente al lugar donde se encontraron neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante los registros llevado a cabo con el electrodo de tungsteno. Este procedimiento de inyección, utilización de un electrodo de tungsteno y uno de cuarzo, disminuyó el daño ocasionado al animal durante las sesiones de registro (el tubo guía del electrodo de cuarzo tenía mayor diámetro que el tubo guía del electrodo de tungsteno). Adicionalmente, la solución conductora, utilizada para disolver la biocitina, permitió el consiguiente registro electrofisiológico y corroboración de la zona registrada como porción dorsal del núcleo Y.

La inyección de biocitina se realizó utilizando pulsos cuadrados de corriente positiva de 7 μA de intensidad al 70%, con una frecuencia de 1 Hz (700 ms de corriente por cada segundo), y por un periodo de 20 minutos. Una vez transcurridos los 20 minutos de inyección, el electrodo se dejó reposar en el sitio de inyección por 15 minutos. Finalmente, y al mismo tiempo que se retrajo el electrodo (100 $\mu\text{m/s}$), se inyectó una corriente igual a la utilizada anteriormente pero de signo negativo. Esto último impidió la fuga del marcador del electrodo de cuarzo durante la ascensión del electrodo en el tubo guía.

Una vez el animal inyectado con biocitina, se dejó vivo por 48 horas antes de la perfusión.

2.6.2 Métodos de perfusión del animal

El animal se reanestesió profundamente con pentobarbital sódico, inyectado intraperitonealmente (15 mg/Kg), previa inmovilización con Ketamina (25 mg/Kg, i.m.). Una vez el animal estuvo profundamente anestesiado, se localizó la vena femoral, a la altura de la pelvis. Con un bisturí se cortó la piel y se limpió la vena femoral de tejido. Posteriormente, a través de la vena femoral se inyectaron lentamente 0,3 ml de heparina sulfato (1000 UI). De esta manera se impidió la coagulación de la sangre durante los siguientes pasos de la perfusión.

En un siguiente paso, la cavidad torácica se abrió a nivel del diafragma y paralelamente a la línea de las costillas. Posteriormente se plegó dejando expuestos el corazón y los pulmones del animal. El pericardio del corazón se retiró, exponiendo los ventrículos y las aurículas del corazón. A continuación se realizó una pequeña incisión en el ventrículo izquierdo del corazón, por la que se introdujo la cánula de perfusión. Esta cánula de perfusión se hizo pasar desde el ventrículo izquierdo hasta la arteria aorta. Aquí, se fijó la cánula para la perfusión. Finalmente, con la ayuda de un bisturí, se realizó una incisión en la aurícula derecha, y se perfundió el animal con 400 ml de solución salina (solución al 0,9% de NaCl y 0,1% NaNO₂). Para facilitar la perfusión del encéfalo, se ocluyó la aorta descendente, grapándola con unas pinzas. De esta manera se limitó la perfusión a la zona superior del cuerpo, brazos y cabeza.

La fijación de tejido se realizó con 700 ml de paraformaldehído al 2,5%, y glutaraldehído al 1,25%, disuelto en tampón fosfato. Durante los primeros momentos de fijación se aumentó la presión de la bomba de perfusión, con lo que se consiguió una mayor apertura de los vasos,

disminuyendo la resistencia al paso del resto de fijador. Finalmente, el fijador se sustituyó por 300 ml de una solución salina al 30% en sacarosa, que también se hizo pasar a través de la cánula de perfusión.

Una vez el animal completamente perfundido, se procedió a abrir el cráneo y se extrajo el cerebro completo del animal. En este estudio sólo se utilizó el tronco del encéfalo, desde el margen posterior del núcleo hipogloso, hasta el núcleo del motor ocular común. Esta porción de cerebro, una vez separado del resto, se introdujo en un bote con solución de sacarosa al 30% en solución salina, y se colocó en el refrigerador por un periodo de 12 horas.

2.6.3 Corte y procesamiento del cerebro

El trozo del cerebro se colocó en el microtomo y se cortó en frío en rodajas coronales de 90-110 μm de grosor. Los cortes se recogieron inmediatamente en tampón fosfato frío 0,1 M, pH 7,4. Una vez obtenidos los cortes se procedió a teñirlos de acuerdo con la técnica de Nissl o al revelado de la biocitina.

2.6.3.1 Tinción de Nissl

Finalizadas las sesiones de registro en los monos A, B, C, E y F, sus cerebros se utilizaron para estudios histológicos utilizando el método de tinción de Nissl. Este método permitió la identificación de los núcleos vestibulares en el tronco del encéfalo. Asimismo los lugares de registro se localizaron mediante la observación de las lesiones producidas por el paso de los electrodos en el tejido.

Los cortes se montaron directamente sobre portaobjetos y se dejaron secar al aire por 24 horas. Una vez secos, los cortes se tiñieron con cresil violeta al 0,5% en agua destilada. La deshidratación del material se realizó utilizando una batería de alcoholes en concentración creciente y finalmente se les dio dos baños en xilol. Finalmente los cortes se cubrieron con un medio de montaje permanente (DPX). Tras 36-48 horas de secado al aire los cortes estuvieron listos para su observación al microscopio.

2.6.3.2 Revelado de la biocitina

Sólo el mono D se utilizó para estudios de transporte retrógrado. Para el revelado de la biocitina se utilizó el siguiente protocolo. Primero se lavaron varias veces las secciones con tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4. Posteriormente los cortes se sumergieron en tampón fosfato, 0,1 M, pH 7,4. Entonces las secciones se incubaron durante tres horas en el complejo ABC Este complejo se preparó 20 minutos antes de utilizarlo en tampón fosfato 0.1 M, pH 7.4. A partir este momento se procuró que los cortes estuvieran protegidos de la luz utilizando papel de aluminio, ya que este complejo es sensible a la luz.

Para el revelado se utilizó como cromógeno la diaminobenzidina (DAB) al 0,05% en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4. Posteriormente se añadió peróxido de hidrógeno al 0,01% durante varios minutos. La reacción se detuvo con tampón fosfato frío (0,1 M, pH 7,4 a 4°C) cuando se observó el marcaje esperado en los cortes. Para terminar, los cortes se montaron en portaobjetos con gelatina.

Una vez seco el tejido, éste se sometió a un tratamiento de deshidratación utilizando una batería de alcoholes, y por último xilol. Finalmente el material se cubrió con la ayuda de DPX.

2.6.4 Análisis de los cortes histológicos

Para el análisis de las muestras histológicas se utilizó un microscopio óptico (Zeiss y Olympus), una cámara fotográfica (Olimpus) y un ordenador Machintosh. Finalmente se utilizó el programa Adobe Photoshop y Adobe Illustrator para Machintosh.

Los cortes examinados al microscopio óptico (Zeiss) permitieron un primer conteo de células y la identificación de las estructuras de interés del tronco del encéfalo. Posteriormente, para la realización de figuras y diagramas se tomaron fotografías usando una cámara fotográfica (Olimpus) y un microscopio óptico (Olimpus). Estas fotografías se pasaron a un ordenador Machintosh mediante el programa Adobe Photoshop. El posterior análisis y la construcción de diagramas se realizó utilizando conjuntamente los programas Adobe Photoshop y Adobe Illustrator.

3 RESULTADOS

Los resultados presentados en este trabajo se obtuvieron en tres experimentos para los cuales se utilizaron 6 monos ardilla como sujetos experimentales. Como se comentó en la Introducción, el objetivo de este trabajo es esclarecer la procedencia de la señal vestibular presente en las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y.

En un *primer experimento* se utilizaron técnicas electrofisiológicas para estudiar la latencia de activación ortodrómica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral y contralateral. En la primera fase de este experimento se estudió la latencia de activación de estas neuronas en el animal en estado normal de ganancia del reflejo vestíbulo-ocular. En la segunda fase de este experimento se realizó un estudio comparativo de la latencia de activación de estas neuronas cuando el animal se encontraba en estado normal, en estado adaptado a alta ganancia (después de varios días llevando gafas de aumento de imágenes), y en estado adaptado a baja ganancia (después de varios días llevando gafas de disminución de imágenes). Así, en esta última fase se analizó la respuesta a la estimulación del nervio vestibular homolateral y contralateral en el animal en estado normal y en estado adaptado.

En un *segundo experimento*, una vez analizados los resultados del primero, se estudió mediante técnicas histológicas, la localización de las neuronas que envían proyecciones directas a la porción dorsal del núcleo Y, tanto en el tronco del encéfalo como en la corteza cerebelosa.

Finalmente, en un *tercer experimento* se utilizaron técnicas electrofisiológicas, de estimulación antidrómica, para la identificación de las neuronas con señales vestibulares que proyectan al núcleo Y dorsal. Esta última parte del experimento se basó en los datos obtenidos en los dos experimentos anteriores. Por último, se analizó la respuesta de las neuronas activadas

antidrómicamente durante movimientos oculares espontáneos y durante estimulación vestibular en la luz.

3.1 EXPERIMENTO I. ESTUDIO DE LA LATENCIA DE ACTIVACIÓN SINÁPTICA DE LAS NEURONAS DE LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y TRAS LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL VIII PAR CRANEAL

3.1.1 En el animal no adaptado

3.1.1.1 Identificación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y atendiendo a su respuesta electrofisiológica

Tres monos ardilla (A, B y C) se utilizaron en este primer experimento. Se identificaron un total de 49 neuronas pertenecientes a la porción dorsal del núcleo Y en el mono en estado normal de ganancia (A, n= 17; B, n= 16; C, n=16). Para la identificación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y de los monos B y C se utilizaron criterios estereotáxicos, así como de respuesta electrofisiológica durante seguimiento visual, cancelación y potenciación del reflejo vestibulo-ocular, y en algunas ocasiones inversión del reflejo vestibulo-ocular. En la mayoría de los casos no se consiguió una buena respuesta comportamental en el mono A durante la cancelación y la potenciación del reflejo vestibulo-ocular. Sin embargo el mono A presentó una

buena respuesta durante seguimiento visual. Esta última respuesta se utilizó como elemento identificativo cuando no se consiguió cancelación del reflejo vestibulo-ocular.

Nuestra experiencia durante el registro electrofisiológico en el área de la porción dorsal del núcleo Y indicó que poblaciones neuronales que rodean al grupo Y dorsal no presentan señales de velocidad del ojo. Áreas inmediatamente mediales y anteriores a la porción dorsal del núcleo Y mostraron principalmente información referente a la posición de los ojos en su órbita, incrementando su tasa de disparo, principalmente, para posiciones oculares dirigidas hacia abajo. Inmediatamente dorsal al núcleo Y se encontraron neuronas con un fuerte componente sacádico, y con un disparo irregular. Estas últimas neuronas estaban situadas, probablemente, en la porción ventral del núcleo dentado. En la porción ventral del núcleo Y se encontraron neuronas cuya tasa de disparo fue muy regular, y sin sensibilidad a los movimientos oculares rápidos (movimientos sacádicos) o a la posición ocular. Neuronas de la porción ventral del núcleo Y reciben entradas directas de los órganos otolíticos e informan de velocidades lineales de la cabeza (Sato y Kawasaky, 1987).

Finalmente, y para confirmar que el sitio de registro estaba localizado en la región dorsal del grupo Y, antes de la perfusión al mono A se realizó una lesión en la región inmediatamente superior al núcleo Y. La lesión se realizó utilizando corriente continua de 30 mA, aplicada durante 20 s. El análisis histológico posterior confirmó que la lesión se encontró en la parte ventral del núcleo dentado del cerebelo.

3.1.1.1 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante movimientos oculares espontáneos

En condiciones de no estimulación vestibular y/o optocinética, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron una tasa de disparo aproximada de 80-105 potenciales de acción

por segundo (PA/s). Esta tasa de disparo se vio afectada en algunas células por la posición de los ojos en su órbita, y en todas ellas por los movimientos sacádicos.

A.- Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y a la posición ocular.

Entre la población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se encontraron neuronas con sensibilidad para posiciones oculares horizontales así como verticales. En la **figura 17** se muestra la respuesta de una neurona de la porción dorsal del grupo Y durante movimientos oculares espontáneos. La célula de la **figura 17** presentó una sensibilidad a posiciones horizontales del ojo de 0,83 (coeficiente de correlación, $r = 0,67$) potenciales de acción por segundo y por grado (PA/s/°) y una sensibilidad para posiciones verticales del ojo de 0,664 ($r = 0,5$) potenciales de acción por segundo y por grado (PA/s/°). Estos valores se obtuvieron a partir del ajuste mediante regresión lineal entre la tasa de disparo neuronal y la posición ocular durante fijaciones oculares, según se detalló en Material y Métodos. Como criterio, neuronas con un $r < 0,6$ para posiciones verticales u horizontales se descartaron como neuronas sensibles a la posición ocular. Así, la neurona de la **figura 17** se consideró relacionada con posiciones horizontales del ojo.

La mayor parte de las neuronas identificadas como neuronas de la porción dorsal del grupo Y no mostraron relación con la posición ocular (mono A, 2 sensibles frente a 15 no sensibles; mono B, 2 sensibles frente a 14 no sensibles; animal C, 4 sensibles frente a 12 no sensibles). La sensibilidad de las neuronas de la porción dorsal del grupo Y a la posición ocular fue muy variable, tanto en aquellas células sensibles a posiciones verticales como horizontales del ojo.

B.- Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y a los movimientos sacádicos.

Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y no mostraron una preferencia específica por los movimientos sacádicos, sin embargo, la mayoría de ellas respondieron con un

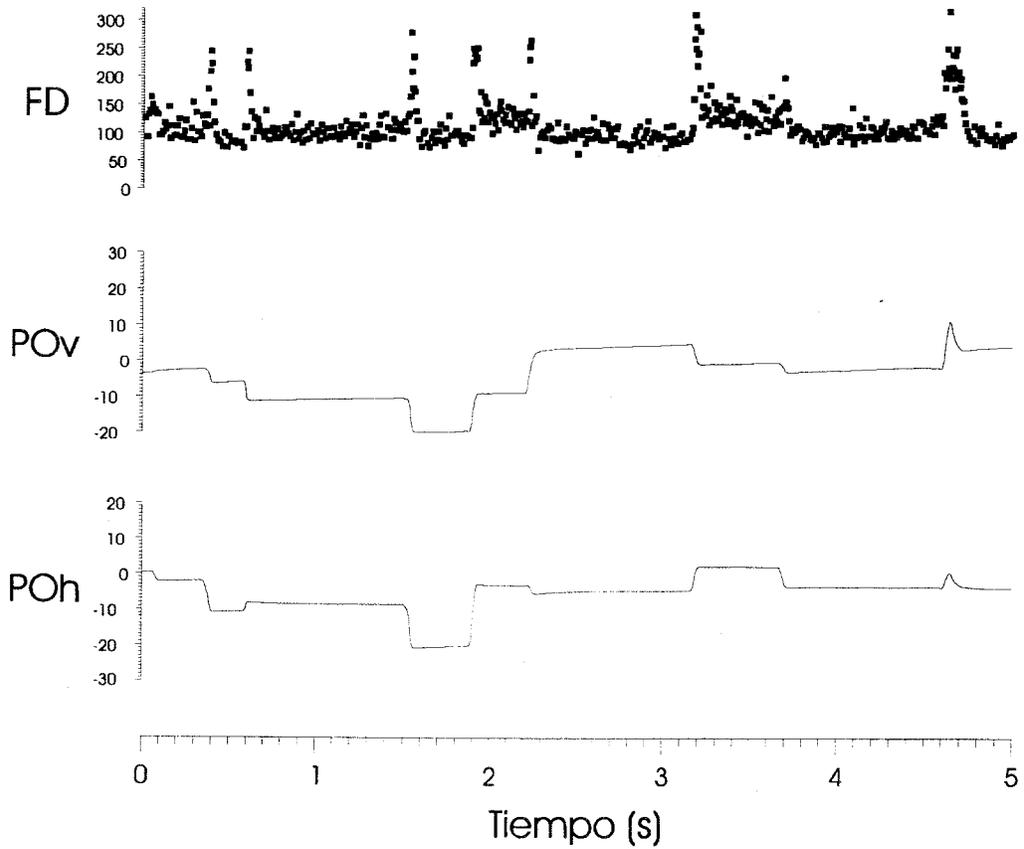


Figura 17. Patrón de disparo de una neurona de la porción dorsal del núcleo Y durante movimientos oculares espontáneos. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo de la neurona en potenciales de acción por segundo por grado por segundo (PA/s/°s); POh, posición de los ojos en el plano horizontal en grados; POv, posición de los ojos en el plano vertical en grados.

incremento brusco en su tasa de disparo hacia una dirección determinada de movimiento y una inhibición hacia la dirección opuesta

3.1.1.1.2 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación visual y/o vestibular

Para la identificación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se utilizó la respuesta de estas neuronas durante el seguimiento visual, reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad, reflejo vestibulo-ocular en la luz, cancelación del reflejo vestibulo-ocular y potenciación del reflejo vestibulo-ocular.

A.- Seguimiento visual. Durante estimulación visual y manteniendo la cabeza inmóvil, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y mostraron un incremento en la tasa de disparo para movimientos oculares hacia arriba (**figura 18A**). Por lo tanto, estas neuronas modularon en fase con el movimiento del optocinético y en fase con el movimiento vertical de los ojos. Así, movimientos ascendentes del ojo o del sistema optocinético implicaron un aumento en la tasa de disparo de estas neuronas, mientras que movimientos descendentes provocaron una disminución en su tasa de disparo. En la **tabla 1** se muestran los valores obtenidos en los monos A, B y C.

B.- Reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad. Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y mostraron poca modulación, o ninguna, durante rotaciones sinusoidales de la cabeza en la oscuridad (reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad). Aquellas células que mostraron modulación durante el reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad presentaron en general un incremento en su tasa de disparo durante movimientos descendentes de la cabeza (**figura 18B**), esto es, modularon con una fase opuesta al movimiento de la cabeza.

Sujeto	Ganancia de las neuronas (PA/s/°/s)	Fase de las neuronas (°)
Mono A	1,02 ± 0,3	40 ± 33,2
Mono B	0,979 ± 0,463	-18,2 ± 25
Mono C	1,238 ± 0,414	-40,2 ± 47

Tabla 1. Sensibilidad de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y a la velocidad ocular en el mono A, B y C. En la tabla se representa la media y la desviación típica en cada caso. La ganancia esta mediada en potenciales de acción / segundo / grado / segundo, y la fase en grados.

C.- Cancelación del reflejo vestibulo-ocular. Durante la cancelación del reflejo vestibulo-ocular, cuando el estimulador optocinético se movió en la misma dirección y a la misma velocidad que la cabeza, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron una respuesta en fase con la velocidad de la cabeza (**figura 18C**). De este modo, en la cancelación del reflejo vestibulo-ocular las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y incrementaron su tasa de disparo durante movimientos ascendentes de la cabeza y disminuyeron su tasa de disparo durante movimientos descendentes de la cabeza.

D.- Potenciación del reflejo vestibulo-ocular. Si se rota el planetario a la misma velocidad que la cabeza del animal y en sentido contrario se produce potenciación del reflejo vestibulo-ocular. Durante la potenciación del reflejo, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y modularon aproximadamente 180 grados fuera de fase respecto a los movimientos de la cabeza (**figura 18D**). Así, estas neuronas aumentaron su tasa de disparo durante movimientos descendentes de la cabeza y disminuyeron su tasa de disparo durante movimientos ascendentes de la cabeza.

Atendiendo a la respuesta fisiológica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante los diferentes paradigmas de estimulación visuo-vestibular empleados en este estudio,

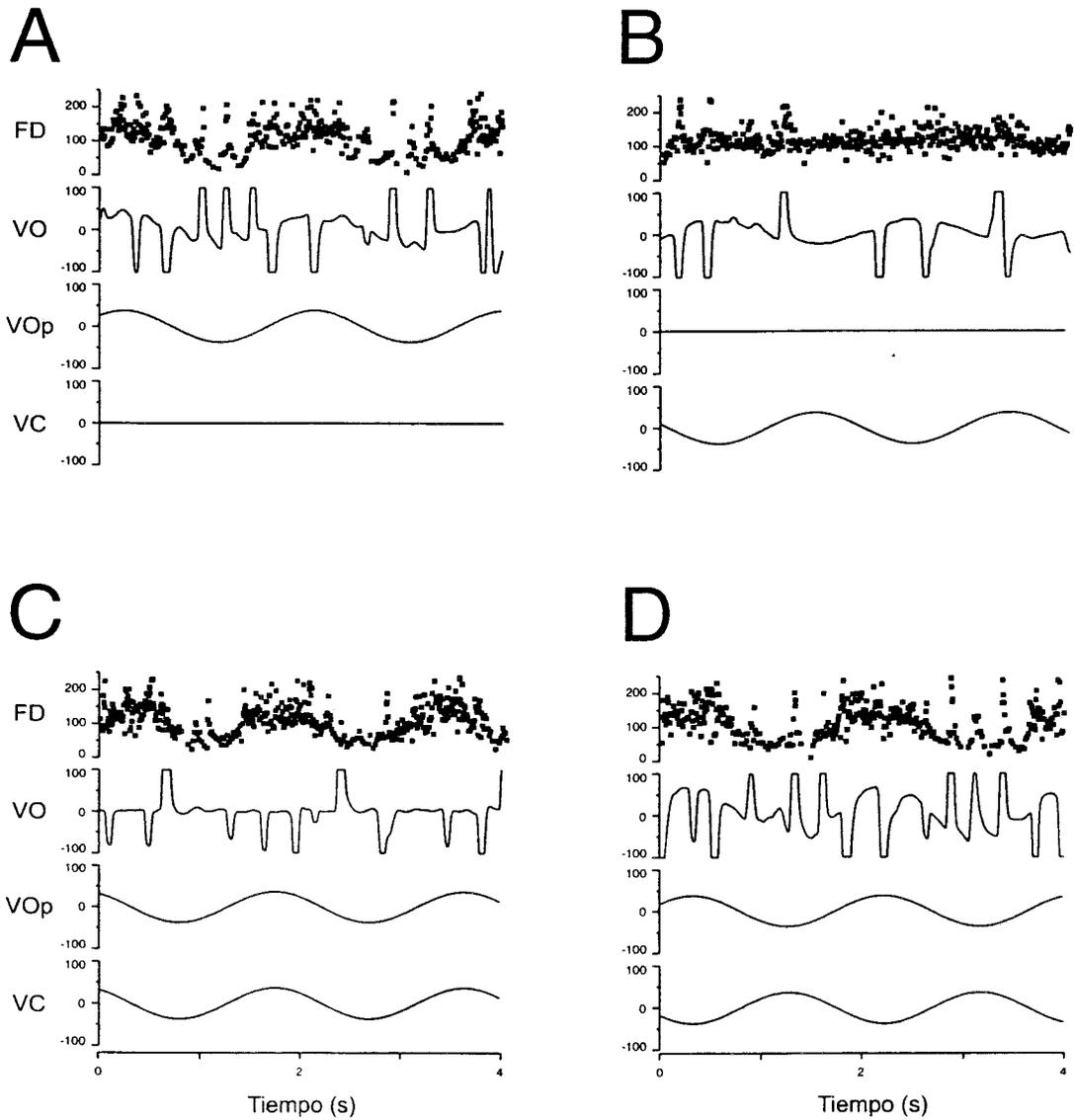


Figura 18. Patrón de disparo de una neurona de la porción dorsal del núcleo Y durante seguimiento visual (A), reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad (B), cancelación del reflejo vestibulo-ocular (C), y potenciación del reflejo vestibulo-ocular (D). La frecuencia utilizada para rotaciones de la mesa y/o planetario fue de 0,5 Hz. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo de la neurona en potenciales de acción por segundo por grado por segundo; VC, velocidad de la cabeza en grados por segundo; VO, velocidad de los ojos en grados por segundo; VOp, velocidad del sistema optocinético en grados por segundo.

podemos decir que estas neuronas se comportaron como indicadores de la velocidad de los ojos en el espacio (Chubb y Fuchs, 1982; Lisberger y Pavelko, 1986; Partsalis y col. 1995a). Es decir, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se comportaron como indicadores de la velocidad de los ojos respecto a un punto de referencia inmóvil fuera del animal.

En nuestros experimentos, la ganancia de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y siempre se correspondió de manera lineal con la ganancia del ojo (**figura 19A**). Esta relación lineal es una característica indicativa del carácter premotor de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, estableciendo conexión directa con los núcleos oculomotores (Partsalis y col., 1995a; Sato y Kawasaky, 1987; Yamamoto y col. 1986). En todas las células estudiadas se obtuvo una recta de regresión con $r > 0,95$. En la **figura 19B** se representa, en la misma gráfica, la ganancia de la neurona de la **figura 18** y la ganancia del ojo, respecto a la fase. Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron un desfase superior a 180 grados durante la potenciación del reflejo vestibulo-ocular, y reflejo vestibulo-ocular en la luz. Sin embargo, durante la cancelación del reflejo, estas neuronas presentaron desfases mayores de 0 grados y menores de 90 grados.

Los estudios poblacionales para el mono B y el mono C aparecen en las **tablas 2 y 3**. La razón por la que en algunos tests de estimulación visuo-vestibular se utilizó un número pequeño de células, se debe al diseño experimental empleado. La porción dorsal del núcleo Y es una estructura pequeña que no permite la realización de muchos tractos en el mismo animal. Por ello, en cada sesión de registro únicamente la primera célula registrada en la porción dorsal del núcleo Y se sometió a la batería de tests completa (seguimiento visual, reflejo vestibulo-ocular en oscuridad, reflejo vestibulo-ocular en luz, cancelación del reflejo vestibulo-ocular, potenciación del reflejo vestibulo-ocular, y en ocasiones, inversión del reflejo vestibulo-ocular) previo a la estimulación del nervio vestibular homolateral y contralateral. Una vez la zona registrada se identificó como la porción dorsal del núcleo Y, las siguientes células se sometieron únicamente a

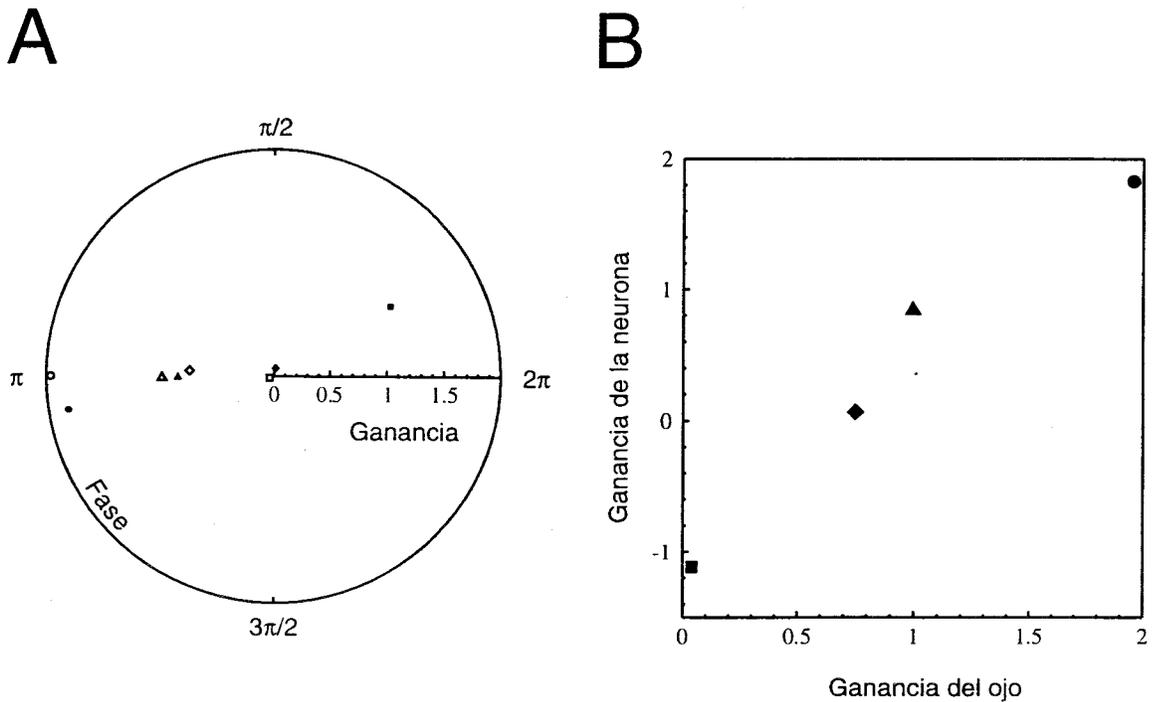


Figura 19. En esta figura se representan los resultados obtenidos tras el análisis de la neurona mostrada en la **figura 18**. En A, la ganancia de la neurona se representa en un gráfico XY respecto a la ganancia del ojo. La ganancia de la neurona se midió en potenciales de acción por segundo por grado por segundo, mientras que la ganancia del ojo se obtuvo con la razón entre el movimiento del mismo (grados por segundo) en relación al movimiento de la mesa (grados por segundo). En B se muestra en un diagrama polar la ganancia del ojo y la ganancia de la neurona con respecto a la fase. Los símbolos blancos corresponden al ojo, mientras que los símbolos negros corresponden a valores en la respuesta neuronal. La fase, tanto para el ojo como para la neurona, se midió comparando su respuesta con la de la mesa (ver métodos). Diferentes símbolos representan diferentes paradigmas de estimulación: círculo, cancelación del reflejo vestibulo-ocular; cuadrado, potenciación del reflejo vestibulo-ocular; triángulo, reflejo vestibulo-ocular en la luz; rombo, reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad.

Tabla 2

Tarea	Ganancia de las neuronas (PA/s/°/s)	Fase de las neuronas (°)	Ganancia del ojo
RVO en la oscuridad	0,25 ± 0,12 (n=15)	-141 ± 79,3 (n=15)	0,81 ± 0,11 (n=14)
RVO en luz	0,39 ± 0,02 (n=2)	-210 ± 4,65 (n=2)	1,13 ± 0,03 (n=2)
Potenciación del RVO	1,12 ± 0,54 (n=5)	-198 ± 7,04 (n=5)	1,91 ± 0,1 (n=5)
Cancelación del RVO	0,5 ± 0,3 (n=16)	4,22 ± 35,3 (n=16)	0,19 ± 0,17 (n=16)
Inversión del RVO	0,9 ± 0,2 (n=4)	-8,7 ± 8,06 (n=4)	0,83 ± 0,06 (n=4)

Tabla 3

Tarea	Ganancia de las neuronas (PA/s/°/s)	Fase de las neuronas (°)	Ganancia del ojo
RVO en oscuridad	0,43 ± 0,14 (n=7)	-202 ± 32,9 (n=7)	0,9 ± 0,13 (n=7)
RVO en luz	0,85 ± 0,12 (n=6)	-185 ± 25,4 (n=6)	0,98 ± 0,09 (n=6)
Potenciación del RVO	1,44 ± 0,54 (n=17)	-201 ± 16,4 (n=17)	1,82 ± 0,25 (n=17)
Cancelación del RVO	0,8 ± 0,4 (n=16)	-14 ± 13,5 (n=16)	0,08 ± 0,03 (n=16)

Tablas 2 y 3. Valores obtenidos tras el análisis de la respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación vestibular en la oscuridad para el mono B (tabla 2) y C (tabla 3). Los valores representan la media ± la desviación típica. Entre paréntesis se muestra el tamaño de la muestra.

seguimiento visual y cancelación del reflejo vestibulo-ocular antes de la estimulación eléctrica del nervio vestibular. Si tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular aún permanecía aislada la célula, ésta se sometió a la batería completa del test (potenciación del reflejo vestibulo-ocular, reflejo vestibulo-ocular en luz y reflejo vestibulo-ocular en oscuridad).

Los valores mostrados en las **tablas 2 y 3** están representados gráficamente en la **figura 20**. En esta figura se presenta la media y desviación típica para ambos monos. Como se puede observar, al igual que ocurre con una célula individual, también los valores de ganancia neuronal para la población completa se relacionaron de manera lineal con la ganancia del ojo. En este caso el coeficiente de correlación de la recta de regresión fue menor que para una neurona individual, pero en cualquier caso superior a 0,8.

3.1.1.2 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular en el animal no adaptado

3.1.1.2.1 Respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral al lugar de registro

La respuesta neuronal tras la estimulación eléctrica del VIII par craneal homolateral se estudió en un total de 47 neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (mono A, n=17; mono B, n=14; mono C, n=16) en el animal con ganancia normal del reflejo. Para la estimulación del nervio vestibular se emplearon pulsos simples de estimulación, de 100 μ s de duración y 100-400 μ A de intensidad.

En la **figura 21 (A y B)** se muestra, como ejemplo, la respuesta de dos neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación del VIII par craneal homolateral al lugar de

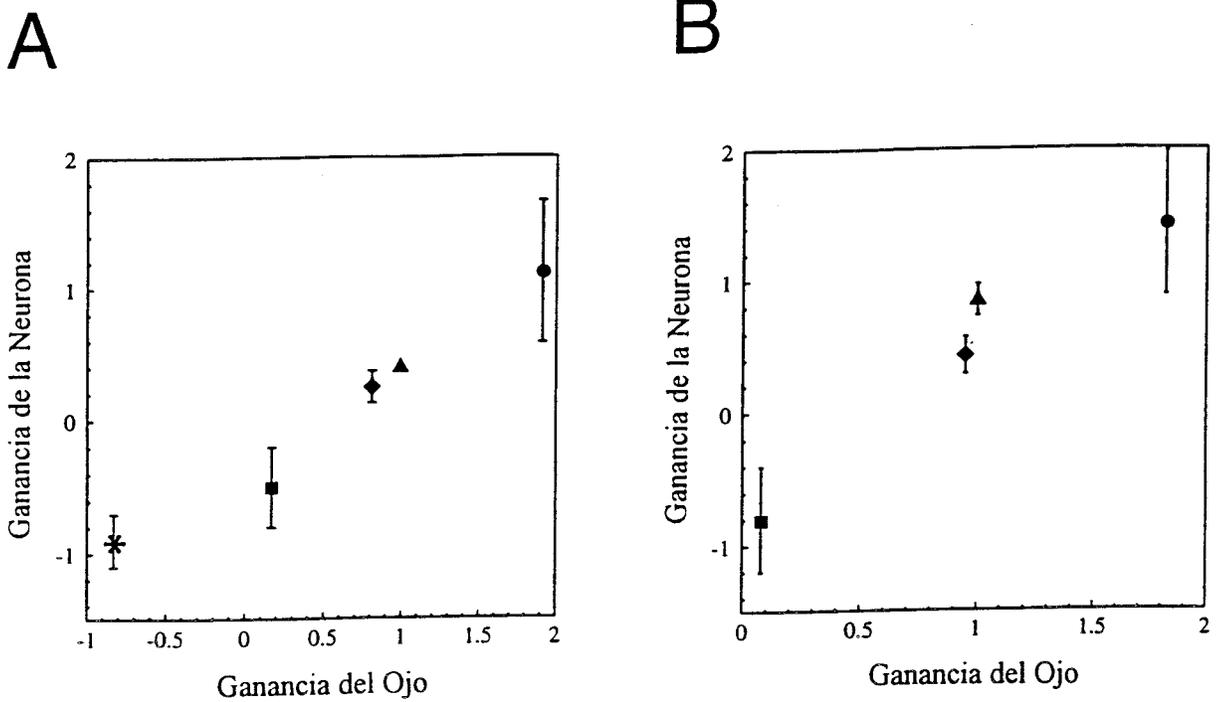


Figura 20. Estudios poblacionales para las neuronas registradas en la porción dorsal del núcleo Y. A, resultados obtenidos en el mono B. B, resultados obtenidos en el mono C. La figura se construyó con las medias y desviaciones típicas de las respuestas neuronales observadas durante cancelación del reflejo vestibulo-ocular, potenciación del reflejo vestibulo-ocular, reflejo vestibulo-ocular en la luz, reflejo vestibulo-ocular en la oscuridad, e inversión del reflejo vestibulo-ocular (sólo para el mono B). El código utilizado en los símbolos es el mismo que en la figura 19, con la excepción de la inversión del reflejo vestibulo-ocular (asterisco).

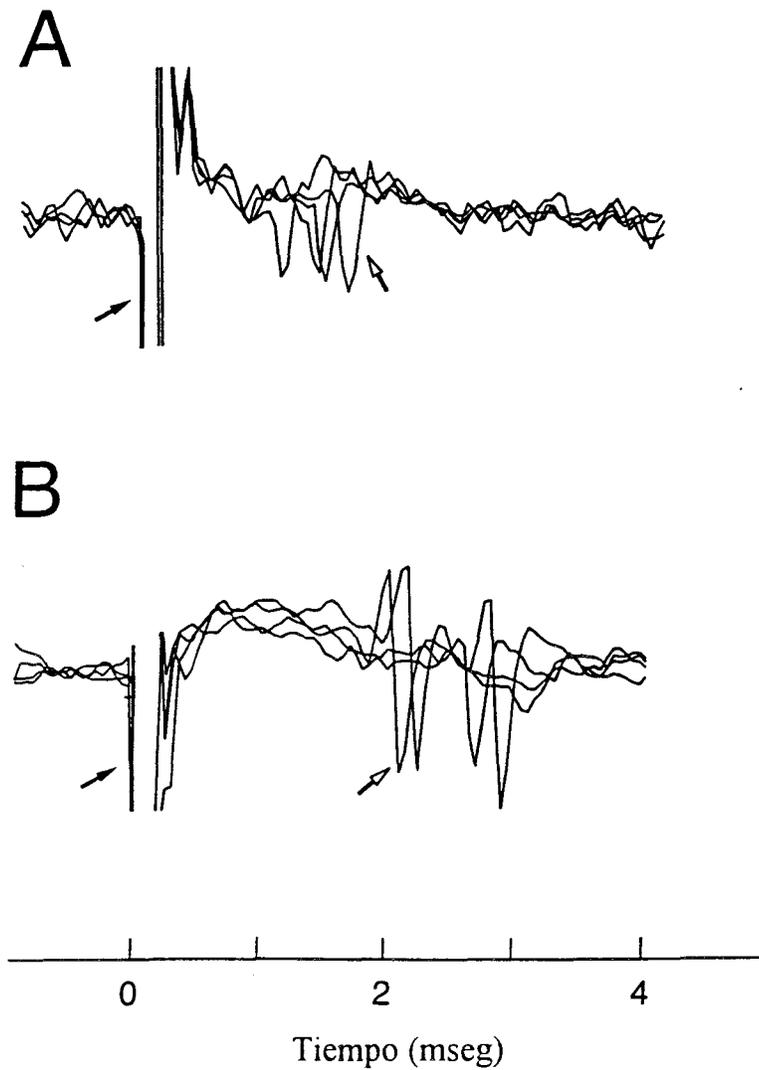


Figura 21. Activación sináptica de dos neuronas localizadas en la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral. Las flechas negras indican el artefacto de estimulación. Las flechas blancas señalan la presencia de potenciales de acción en la neurona registrada.

registro. La célula presentada en A se activó a una latencia mínima de 1,15 ms, una latencia máxima de 1,7 ms y una latencia media de 1,35 ms. La neurona presentada en la **figura 21B** se activó a una latencia mínima de 1,9 ms, una latencia máxima de 2,9 ms y una latencia media de 2,4 ms. Como se muestra en los dos ejemplos presentados en la **figura 21**, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron latencias variables de activación para una misma neurona. También en este ejemplo se observó que la latencia media de activación es diferente dentro de la población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (la célula en la **figura 21A** se activa a una latencia media de 1,35 ms, frente a la célula de la **figura 21B**, que se activa a 2,4 ms).

La intensidad de corriente necesaria para observar una activación sináptica consistente (activar la neurona en más del 25% de los casos), varió de unas neuronas a otras. Algunas neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron una corta latencia de activación, cercana a 1 ms, y requirieron estímulos menores de 200 μA para obtener una activación consistente. Sin embargo, la gran mayoría de neuronas identificadas como neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron latencias de activación superiores a 1,2 ms siendo en ocasiones cercanas a 2 ms, o incluso mayores de 2 ms (mono A). La intensidad de corriente necesaria para activar a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y dependió, en la mayoría de los casos, de su latencia de activación. Así, neuronas con latencias inferiores a 1,3 ms se activaron utilizando corrientes de 175 μA . Por el contrario, neuronas con latencias superiores a 1,5 ms sólo se activaron utilizando pulsos de estimulación superiores a 200 μA . En todos los casos la duración del pulso de estimulación fue constante, e igual a 100 μs .

Debido a que la mayoría de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y no se activaron a una latencia fija, se utilizaron histogramas post-estímulo para obtener la latencia de activación de cada célula. Neuronas activadas desde el VIII par craneal, mostraron un pico en el histograma correspondiente a aquellos valores de latencia donde apareció en más ocasiones un potencial de

acción. En la **figura 22** se representan 4 histogramas post-estímulos correspondientes a dos células de la porción dorsal del núcleo Y. El histograma de la **figura 22A y 22B** se obtuvo utilizando pulsos de corriente de 175 μA , el histograma de la **figura 22C y 22D** se obtuvo utilizando corrientes de 300 μA . En un buen número de neuronas de la porción dorsal del grupo Y se necesitaron corrientes superiores a 200 μA para mostrar algo de activación. Sin embargo, en ocasiones, pulsos de 400 μA no fueron suficientes para producir una respuesta sobresaliente en la neurona.

Los estudios poblacionales presentaron una gran variedad en la respuesta de activación entre la población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. En la **figura 23**, y en la **tabla 5** se muestran los valores obtenidos en cada mono usando una corriente de 250 μA . El mono C mostró los valores de latencia media más cortos de entre los tres monos. Sin embargo, a pesar de la diferencia en latencia observada entre los tres monos, todos ellos presentaron latencias de activación variables entre diferentes neuronas. El rango de variabilidad fue aproximadamente igual en los tres monos encontrándose entre la población de neuronas registradas en cada mono células con latencia de activación de aproximadamente 1,1 ms a más de 2,0 ms.

Sujeto Experimental	Media (ms)	Desviación típica (ms)	Número de células
Mono A	1,93	0,75	17
Mono B	1,58	0,45	14
Mono C	1,31	0,27	17

Tabla 5. La tabla representa los valores de latencia de activación sináptica (en ms) de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral. Los datos se obtuvieron de los monos A, B y C.

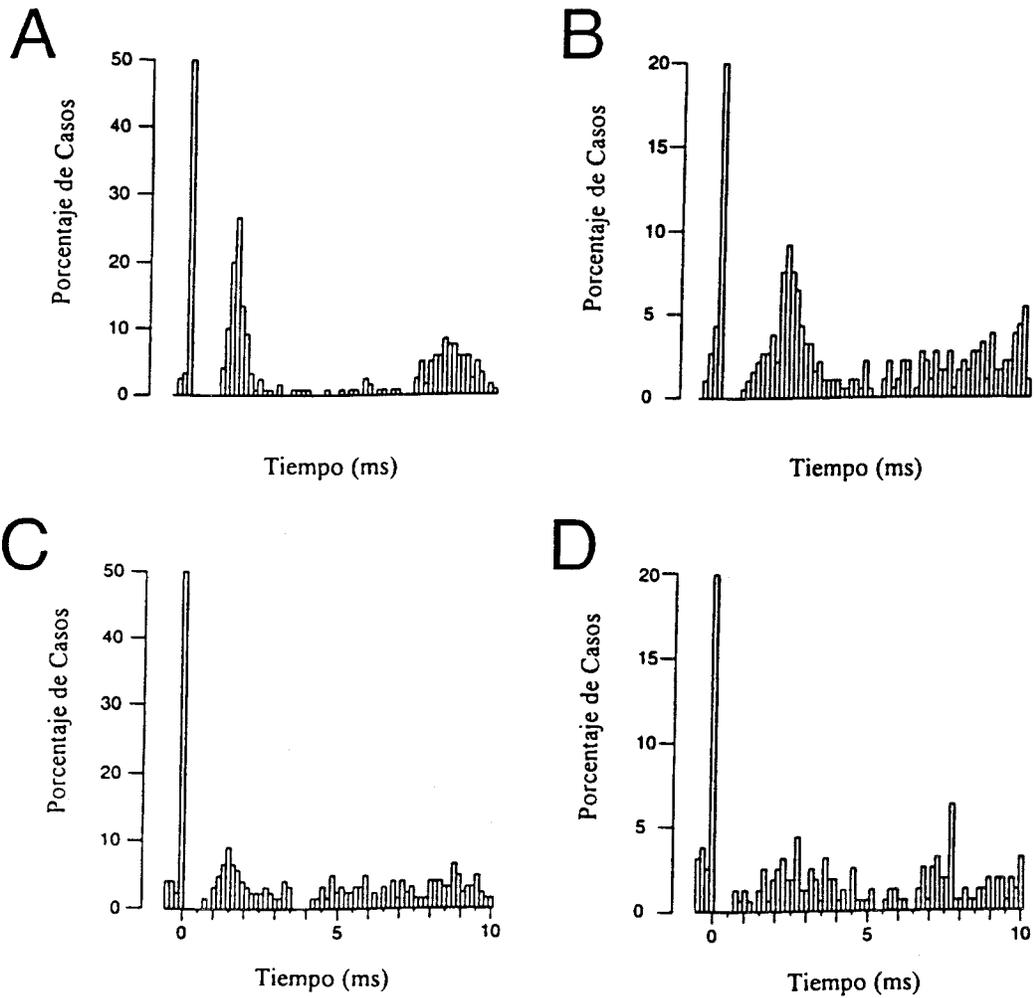


Figura 22. Histogramas post-estimulo para dos neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (A - C y B - D). En A y B la corriente utilizada fue de $300 \mu A$, en C y D la corriente utilizada fue de $200 \mu A$. En todos los casos las estimulaciones consistieron en pulsos simples de $100 \mu s$ de duración.

Latencia de activación (ms)

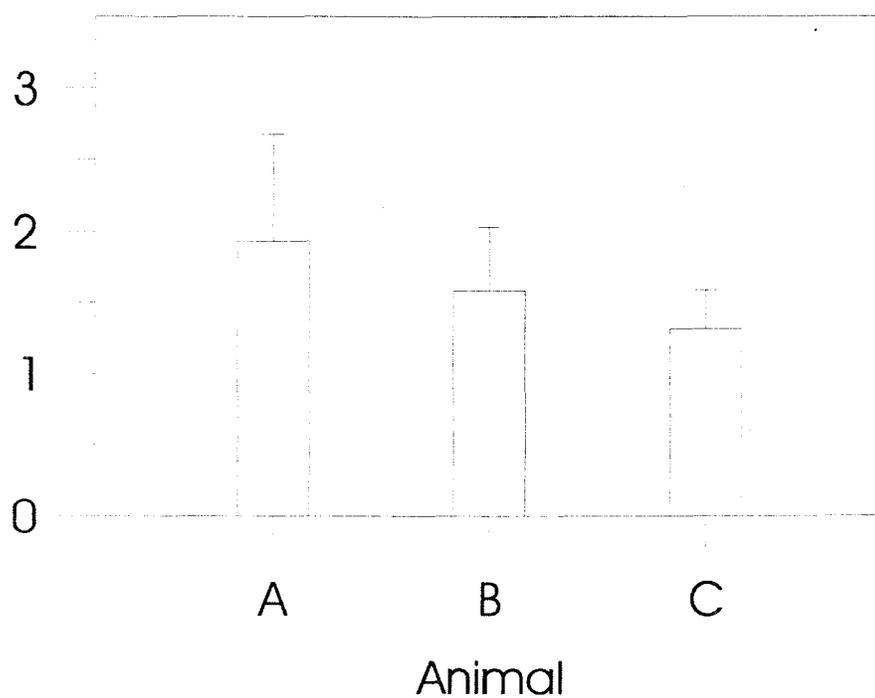


Figura 23. Latencia media de activación sináptica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral. Las barras representan los valores de desviación típica obtenidos en cada caso.

3.1.1.2.2 Características electrofisiológicas de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y atendiendo a la latencia de respuesta mostrada tras la estimulación del nervio vestibular homolateral.

Aunque no se persiguió un estudio que pudiera correlacionar las diferencias de respuesta electrofisiológica entre neuronas de la porción dorsal del grupo Y con diferente latencia de activación sináptica desde el nervio vestibular, en varias células se intentó sin éxito esta separación de grupos.

En la **figura 24** se muestra la ganancia del ojo respecto a la ganancia de la neurona correspondiente a tres neuronas identificadas como neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, en el mono B, de acuerdo con criterios estereotáxicos y de respuesta fisiológica. La célula 1 se activó a una latencia de 1,15 ms utilizando pulsos de estimulación de 100 μ s y menores de 200 μ A. La célula 2 se activó a una latencia de 1,6 ms, utilizando pulsos de estimulación de 100 μ s y mayores de 200 μ A. Sin embargo, la célula 3 no se consiguió activar utilizando intensidades máximas de corriente de 400 μ A. Las tres células se clasificaron como neuronas de la porción dorsal del núcleo Y de acuerdo con convenciones fisiológicas (sensibilidad a la velocidad ocular en el espacio) y estereotáxicas. A la derecha del gráfico, presentado en la **figura 24**, se muestra la ecuación de la recta de regresión obtenida para cada célula. Las tres rectas de regresión mostraron pendientes similares, lo que las hace indistinguibles atendiendo a su respuesta electrofisiológica durante la ejecución de los paradigmas de estimulación visuo-vestibular empleados en nuestro trabajo.

3.1.1.2.3 Estimulación del VIII par craneal contralateral al lugar de registro

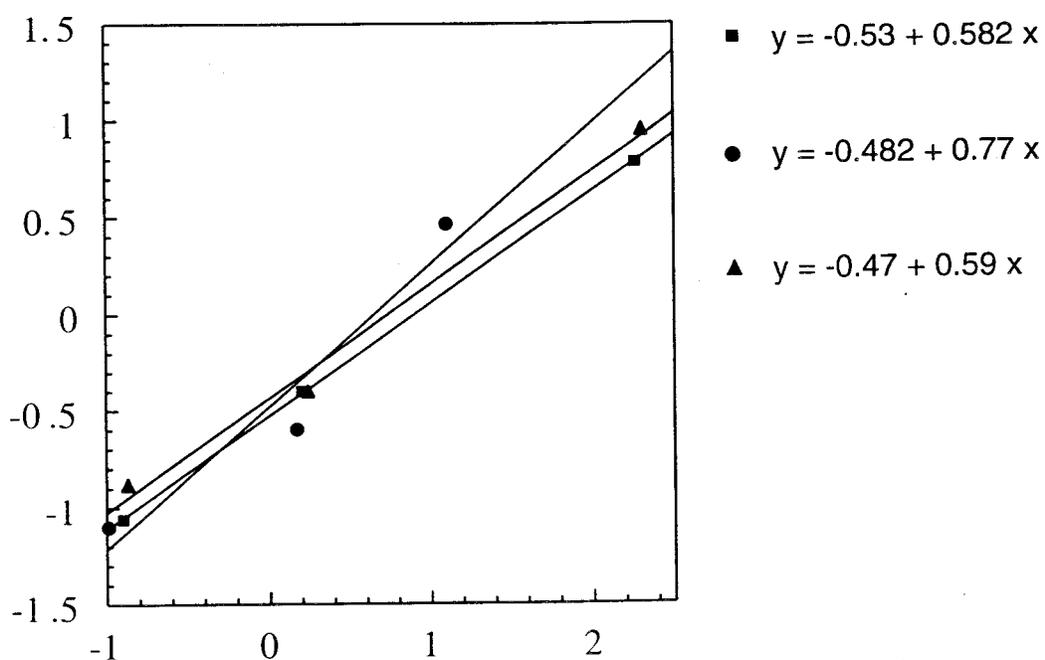


Figura 24. En esta figura se presenta una gráfica, similar a la mostrada en las *figuras 19A* y *20*, para tres neuronas en el mono C. La neurona 1 (cuadrados) se activó sinápticamente a una latencia de 1,2 ms, la neurona 2 (círculos) se activó a una latencia de 1,5 ms, y la neurona 3 (triángulos) no logró ser activada utilizando una corriente máxima de 400 μA .

En esta parte del experimento se utilizaron dos monos (mono A y C). La estimulación eléctrica del laberinto contralateral consistió en pulsos únicos de 100 μ s de duración y 400 μ A de intensidad.

Gran parte de las neuronas registradas en el mono A mostraron algún tipo de respuesta a la estimulación del nervio vestibular contralateral. En la mayoría de los casos se necesitaron más de 100 pulsos para obtener un histograma post-estímulo adecuado para la medición de latencias. Las latencias de activación obtenidas en ambos monos no fueron en ningún caso inferior a 2 ms. Todas las neuronas que se activaron desde el nervio del VIII par contralateral mostraron un valle en su histograma entre 4,5- 9 ms del inicio del pulso de estimulación.

Debido al daño que estimulaciones bipolares producen a nivel del oído interno, se decidió utilizar un número de pulsos, por célula registrada, no superior a la centena. Pensamos que este factor, junto con las características de la corriente utilizada (quizás no demasiado elevada para identificar rutas polisinápticas que impliquen la existencia de 2 o más interneuronas), impidió en muchos casos que las neuronas registradas fueran identificadas como neuronas activadas desde entradas procedentes del nervio vestibular contralateral. El histograma post-estímulo mostrado por algunas células sugería cierta activación tras la estimulación del nervio vestibular contralateral, pero no fue posible una certera medición de la latencia de activación (**figura 25**)

Como muestra la **tabla 6**, utilizando corrientes de 350 μ A, en el mono A se encontraron 7 neuronas activadas claramente desde el nervio vestibular contralateral, el histograma peri-estímulo de 8 neuronas sugirió una posible activación polisináptica desde el nervio contralateral, y finalmente en 2 casos no se observó relación entre el estímulo y la respuesta neuronal. En el mono C, 5 neuronas se activaron claramente desde el nervio vestibular contralateral, y aunque en

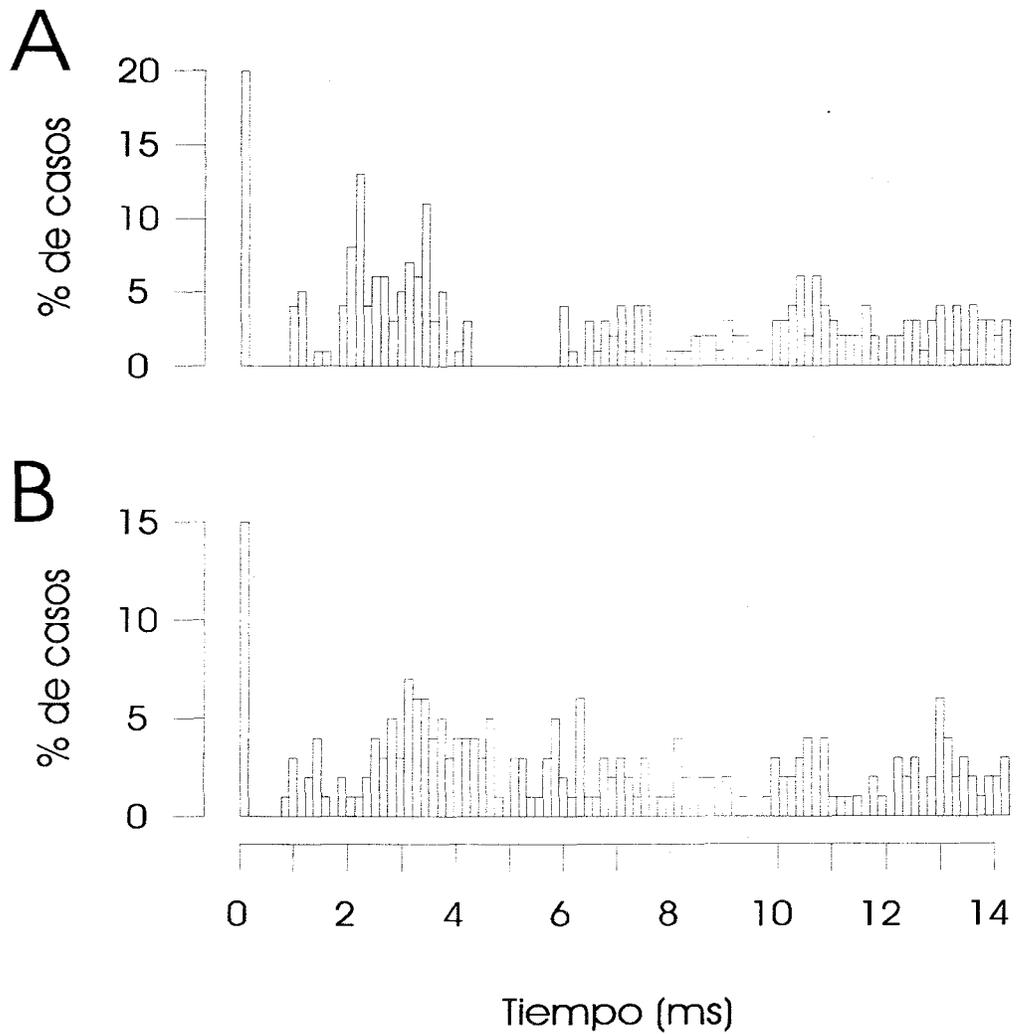


Figura 25. Histograma post-estímulo obtenido en dos neuronas de la porción dorsal del núcleo Y del mono C tras la estimulación eléctrica del VIII par craneal contralateral (parte superior e inferior de la figura).

la mayor parte de las ocasiones no fue posible la activación clara de la neurona, en 7 casos se observó discontinuidad en el histograma a latencias comprendidas entre 2,5 y 3,5 ms. En el resto de las neuronas (n = 4) se obtuvo un histograma plano.

Sujeto experimental	Media (ms)	Desviación típica (ms)	Número de células
Mono A	2,82	0,96	7
Mono C	2,75	0,368	5

Tabla 6. Respuesta de la población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y activadas tras la estimulación del nervio vestibular contralateral. Se indica la media y desviación típica de las latencias de activación sináptica (en ms)

Como se puede ver en la **figura 26**, y en las **tablas 5 y 6**, la latencia de activación desde el nervio vestibular contralateral al lugar de registro fue superior a la latencia observada tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral. Asimismo, el número de neuronas activadas tras la estimulación eléctrica del nervio homolateral fue muy superior al número de neuronas activadas tras la estimulación eléctrica del nervio contralateral al lugar de registro (en el mono A, 17 neuronas frente a 7, y en el mono B, 16 neuronas frente a 5).

3.1.2 En el animal adaptado a alta o baja ganancia del reflejo vestibulo-ocular

Tras el registro electrofisiológico de cierto número de neuronas del grupo Y durante el estado normal de ganancia, tres monos ardilla se adaptaron a baja y/o alta ganancia, mediante el uso permanente de lentes de aumento o disminución de imágenes, de la siguiente manera:

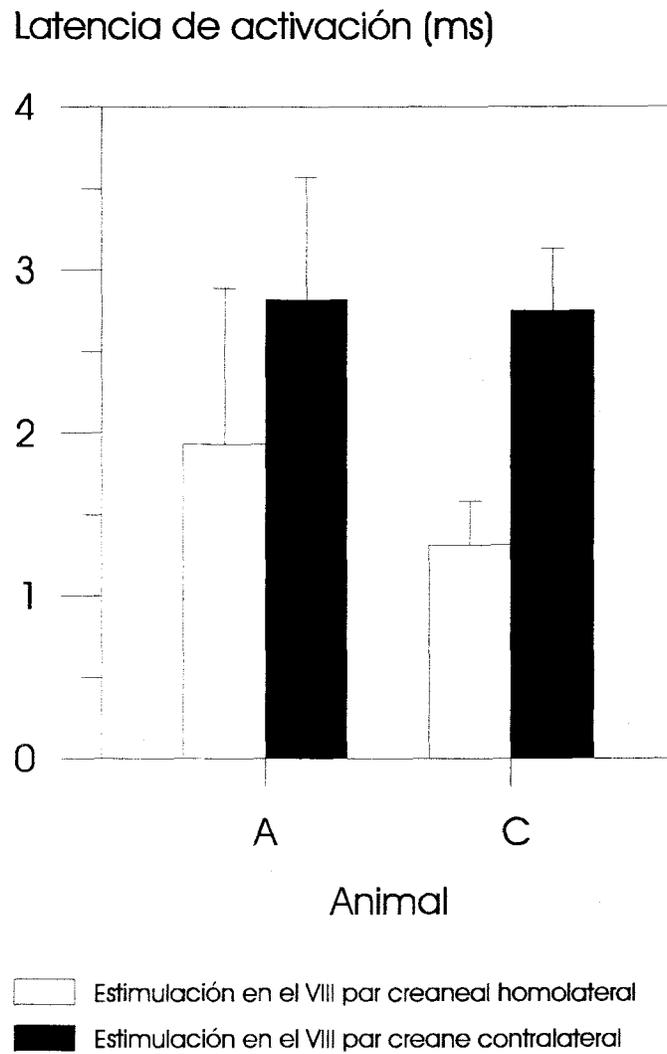


Figura 26. Latencia media de activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y en el mono A y C tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral y contralateral. Se muestra la desviación típica para cada caso.

- El mono A se adaptó a baja ganancia por un periodo de 4 días antes de continuar el registro electrofisiológico.

- El mono B se adaptó a alta ganancia por un periodo de 10 días antes de reanudar el registro electrofisiológico. Tras 2 semanas de registro con el animal adaptado a alta ganancia, éste se readaptó por 3 días a ganancia normal y finalmente se adaptó de nuevo, esta vez a baja ganancia, por un periodo de 4 días. Una vez el animal fue adaptado a baja ganancia se continuó con las sesiones de registro por 10 días.

- Con el objeto de establecer cambios plásticos severos en el reflejo vestibulo-ocular, el mono C se adaptó a baja ganancia por un periodo de 4 meses. Tras estos 4 meses de adaptación se continuaron las sesiones de registro por 4 semanas. Una vez adquirido un número considerable de células del grupo Y dorsal, se eliminaron las lentes de disminución de imágenes y se dejó al animal a ganancia normal por varios días. En este estado, readaptado a ganancia normal, se continuó con el registro electrofisiológico por 4 semanas. Finalmente, el animal fue adaptado a alta ganancia por 2 semanas, antes de reanudar el registro electrofisiológico. El largo periodo de adaptación a baja ganancia al que se sometió el mono C fue intencional. De esta forma, se pretendían provocar cambios drásticos y consistentes en el circuito del reflejo vestibulo-ocular.

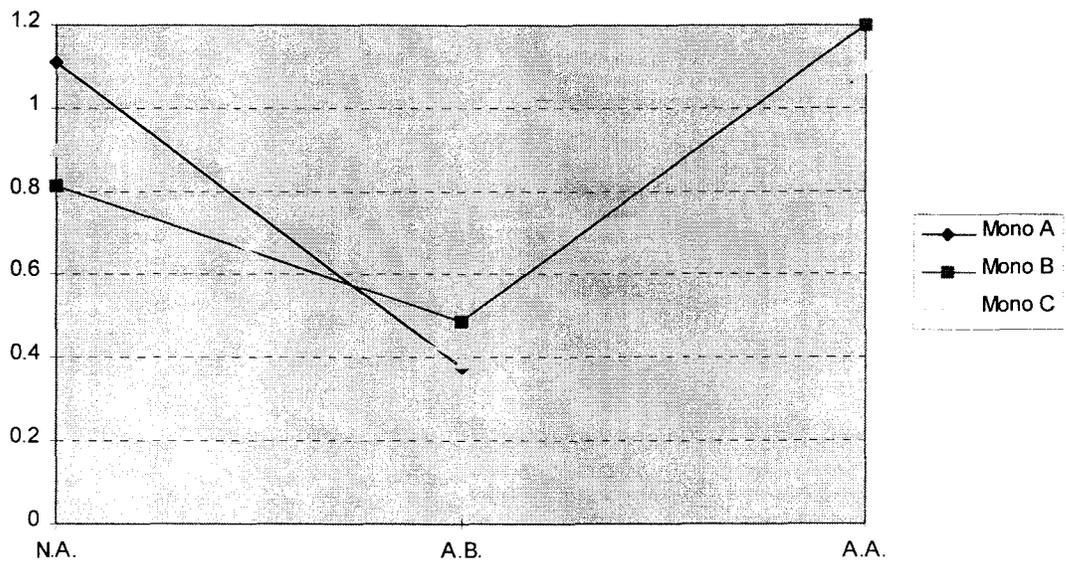
Sujeto	No adaptado	Baja Ganancia	Alta Ganancia
A	1,11	0,38	
B	0,814	0,49	1,2
C	0,9	0,39	1,1

Tabla 7. Ganancia del reflejo vestibulo ocular, medida durante rotaciones sinusoidales de la cabeza en la oscuridad, en el mono A, B y C

La **tabla 7** y la **figura 27** muestran la ganancia del reflejo vestibulo ocular en los tres monos utilizados en este estudio tras la adaptación del animal a baja y alta ganancia. El mono A disminuyó la ganancia del reflejo vestibulo-ocular desde 1,11 a 0,38 tras la adaptación a baja ganancia. El mono B aumentó la ganancia del reflejo vestibulo-ocular desde 0,81 a 1,2 tras la adaptación a alta ganancia, y la disminuyó a 0,49, tras la adaptación a baja ganancia. El mono C disminuyó la ganancia del reflejo vestibulo ocular desde 0,9 a 0,39, tras la adaptación a baja ganancia, y la aumentó posteriormente a 1,1, tras la adaptación a alta ganancia. La adaptación del animal a alta ganancia fue la más difícil de conseguir, mientras que la adaptación a baja ganancia se consiguió en todos los casos tras 2 o 3 días forzándola con las lentes de disminución de imágenes. Mientras el animal llevaba las lentes de aumento, para aumentar la ganancia del reflejo vestibulo-ocular, las gafas se limpiaron cuidadosamente un mínimo de tres veces al día. Esto era extremadamente importante, ya que si las gafas se ensucian impidiendo la visibilidad del animal, el sistema vestibulo-ocular funcionaría hacia un estado de cancelación del mismo (el campo visual se mueve con la cabeza).

3.1.2.1 Respuesta electrofisiológica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras adaptación a alta o baja ganancia del reflejo

La sensibilidad de las neuronas a los movimientos sacádicos o a la posición ocular no se estudió en el animal adaptado. Asimismo, la sensibilidad de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación visual o durante estimulación combinada visuo-vestibular, no fue analizada en todas las células encontradas, ya que la zona había sido extensamente estudiada en el animal en estado normal de ganancia, y reconocida como porción dorsal del núcleo Y. Además, el estudio de la respuesta de estas neuronas durante estimulaciones visuo-vestibulares no constituía el objetivo principal de este estudio. Sin embargo, sí fue analizada la sensibilidad de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación vestibular en la oscuridad, seguimiento visual



*Figura 27. Ganancia del reflejo vestibulo ocular, medida durante rotaciones sinusoidales de la cabeza en la oscuridad, en el mono A, B y C. Cada color de la gráfica corresponde a un animal, y cada punto dentro de cada animal a un determinado estado de ganancia. Esta gráfica se creó a partir de los valores mostrados en la **tabla 7**.*

y cancelación del reflejo vestibulo-ocular. Estos tres paradigmas identificaron inequívocamente cualquier neurona como neurona sensible a la posición ocular, a la velocidad de la cabeza, a la velocidad de los ojos en su órbita o a la velocidad de los ojos en el espacio. Sólo este último tipo de neurona fue tomado en cuenta en este estudio.

La característica más sobresaliente en la respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, tras adaptación del reflejo vestibulo-ocular, es el cambio de su respuesta durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad (Partsalis y col., 1995a). En animales no adaptados, y durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y modularon con una fase opuesta al movimiento de la cabeza, o bien no presentaron modulación alguna. En animales adaptados a baja ganancia estas neuronas modularon en fase con el movimiento de la cabeza. Por el contrario, en aquellos animales adaptados a alta ganancia las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron una modulación con fase opuesta al movimiento de la cabeza. La **figura 28** muestra un ejemplo de la respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y en el mono en estado normal de ganancia, estado adaptado a alta ganancia y estado adaptado a baja ganancia.

La **tabla 8** muestra los resultados obtenidos tras el análisis de la respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante rotaciones sinusoidales en la oscuridad. En ganancia normal, la respuesta neuronal durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad es bastante heterogénea en ganancia y en fase. Normalmente la ganancia suele ser menor de 0,3 potenciales de acción por segundo por grado por segundo. Sin embargo la fase de las neuronas no fue uniforme, lo que da unos valores altos de desviación típica.

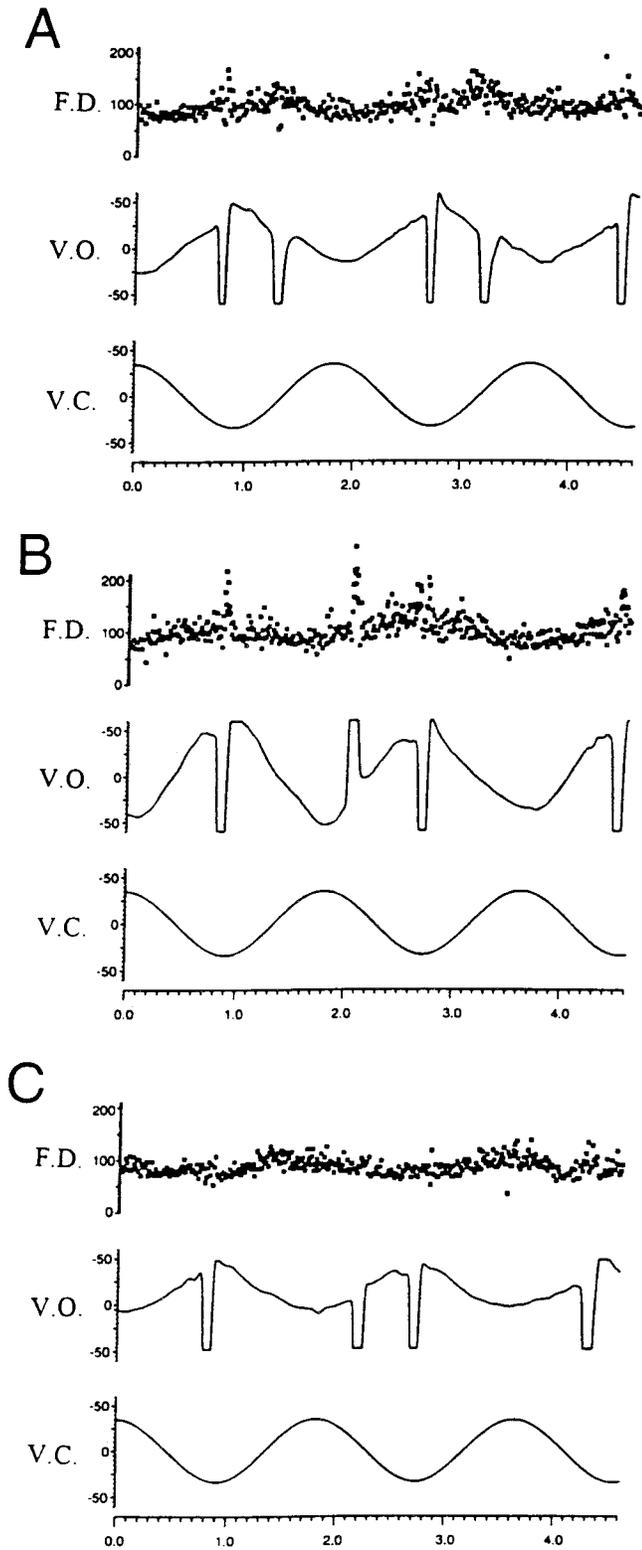


Figura 28. Ejemplos del patrón de disparo mostrado por las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad en diferentes estados de ganancia del reflejo vestibulo-ocular. A, animal no adaptado ($G = 1$); B, animal adaptado a alta ganancia ($G > 1$); C, animal adaptado a baja ganancia ($G < 1$). Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo de la neurona (en potenciales de acción/segundo); VC, velocidad de la cabeza en el plano vertical (en grados/segundo); VO, velocidad de los ojos en el plano vertical (en grados/segundo).

Sujeto	Ganancia normal		Baja ganancia		Alta ganancia	
	Ganancia de la neurona	Fase de la neurona	Ganancia de la neurona	Fase de la neurona	Ganancia de la neurona	Fase de la neurona
Mono A	$0,27 \pm 0,2$	$166 \pm 50,2$	$0,63 \pm 0,27$	$-20,2 \pm 30,5$		
Mono B	$0,25 \pm 0,12$	$-141 \pm 79,3$	$0,4 \pm 0,17$	$-22 \pm 22,1$	$0,33 \pm 0,16$	-181 ± 18
Mono C	$0,43 \pm 0,14$	$-202 \pm 32,9$	$0,85 \pm 0,47$	$-45 \pm 51,2$	$0,65 \pm 0,12$	-183 ± 12

Tabla 8. Ganancia de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad, en diferentes estados de ganancia del reflejo vestibulo-ocular.

3.1.2.2 Respuesta a la estimulación del VIII par craneal homolateral al lugar de registro

Tres monos ardilla se utilizaron en esta fase del experimento. La respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación del VIII par craneal se estudió en un total de 62 neuronas (A, n=13; B, n=22; C, n=34). La **tabla 9** muestra las medias y desviaciones típicas de los valores obtenidos para cada animal. Sólo aquellas neuronas que mostraron activación, utilizando corrientes máximas de 250 μ A, se utilizaron en este estudio. No hay que olvidar que en un buen número de neuronas no se consiguió una activación consistente. Para el cálculo de las medias y desviaciones típicas no se tomó en cuenta la población de neuronas no activadas desde el nervio vestibular utilizando corrientes máximas de 250 μ A.

Adaptación a baja ganancia. En general, y con la excepción del mono B, la latencia de activación sináptica aumentó sensiblemente en aquellas neuronas registradas en el estado de baja ganancia respecto a las neuronas registradas en ganancia normal. Así, en el mono A, las células registradas pasaron de tener una latencia media de 1,93 ms en el animal no adaptado a tener una latencia media de 2,35 ms en el animal adaptado a baja ganancia. De forma similar, en el mono C, las neuronas registradas mostraron una latencia media de activación de 1,31, que se incrementó posteriormente a 1,4, en el animal adaptado a baja ganancia.

Se estudió un total de 7 neuronas en el mono B, de las cuales sólo 3 mostraron un pico apreciable en el histograma de activación. Cuatro de las 7 neuronas estudiadas no mostraron activación consistente utilizando pulsos de estimulación superiores a 250 μ A e inferiores a 400 μ A. Sin embargo, en la mayoría de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y no activadas desde el nervio vestibular homolateral se observó una discontinuidad en el histograma a latencias

cercanas a 2 ms, aunque ésta no fue lo suficientemente pronunciada como para ser recogida en nuestro análisis. Este factor pudo tener como consecuencia el disminuir la latencia media de activación de la población estudiada respecto a la población real.

Baja Ganancia

Alta Ganancia

Sujeto	Media (ms)	Desviación típica (ms)	Media (ms)	Desviación típica (ms)
Mono A	2,35	1		
Mono B	1,84	0,61	1,48	0,2
Mono C	1,4	0,33	1,89	0,49

Tabla 9. Latencia de activación sináptica (en ms) de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la activación del nervio vestibular homolateral en el animal adaptado. En la segunda y tercera columna se incluyen los datos obtenidos tras la adaptación del mono a baja ganancia. Los datos mostrados en la cuarta y quinta columna corresponden al animal adaptado a alta ganancia.

Adaptación a alta ganancia. Aquellos monos que se adaptaron a alta ganancia del reflejo vestibulo-ocular, monos B y C, también mostraron un incremento en la latencia de la población estudiada, respecto a la población obtenida en el estado de ganancia normal. Así, en el mono B, la población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y obtenida en el estado normal de ganancia del reflejo vestibulo-ocular tuvo una latencia media de 1,58 ms, frente a la población de neuronas

de la porción dorsal del núcleo Y estudiada en el estado adaptado a alta ganancia, que tuvo una latencia media de 1,84 ms. También, los valores obtenidos para el mono C mostraron cambios en la misma dirección (ver **tabla 9**). En estos dos monos (monos B y C) las latencias de activación más largas se obtuvieron cuando el animal se encontraba adaptado a alta ganancia.

Animal readaptado a ganancia normal. Neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se registraron en estado no adaptado y en estado readaptado a ganancia normal, en el mono C. La población de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y estudiadas tras la readaptación del reflejo vestibulo-ocular a ganancia normal presentaron latencias de activación superiores en media ($1,57 \pm 0,43$; $n = 14$) a las observadas durante el estado no adaptado. Asimismo, la latencia de la población, estudiada en el estado readaptado del animal, fue también superior a los valores de latencia obtenidos en la población estudiada en el animal adaptado a baja ganancia. Sólo en el mono C se realizaron registros electrofisiológicos en la porción dorsal del núcleo Y tras el periodo de readaptación a ganancia normal.

En la **figura 29** se representan gráficamente los valores de latencia obtenidos en los monos A, B y C en cada estado de ganancia del reflejo vestibulo-ocular, de acuerdo con la sucesión temporal usada en cada uno de los animales. En general, la latencia de activación incrementa sensiblemente al cambiar el estado de ganancia, o a lo largo del tiempo. En el caso del mono B, la mayor parte de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y no activadas tras la estimulación del VIII par craneal se encontraron entre la población de neuronas registradas en el estado de baja ganancia del reflejo.

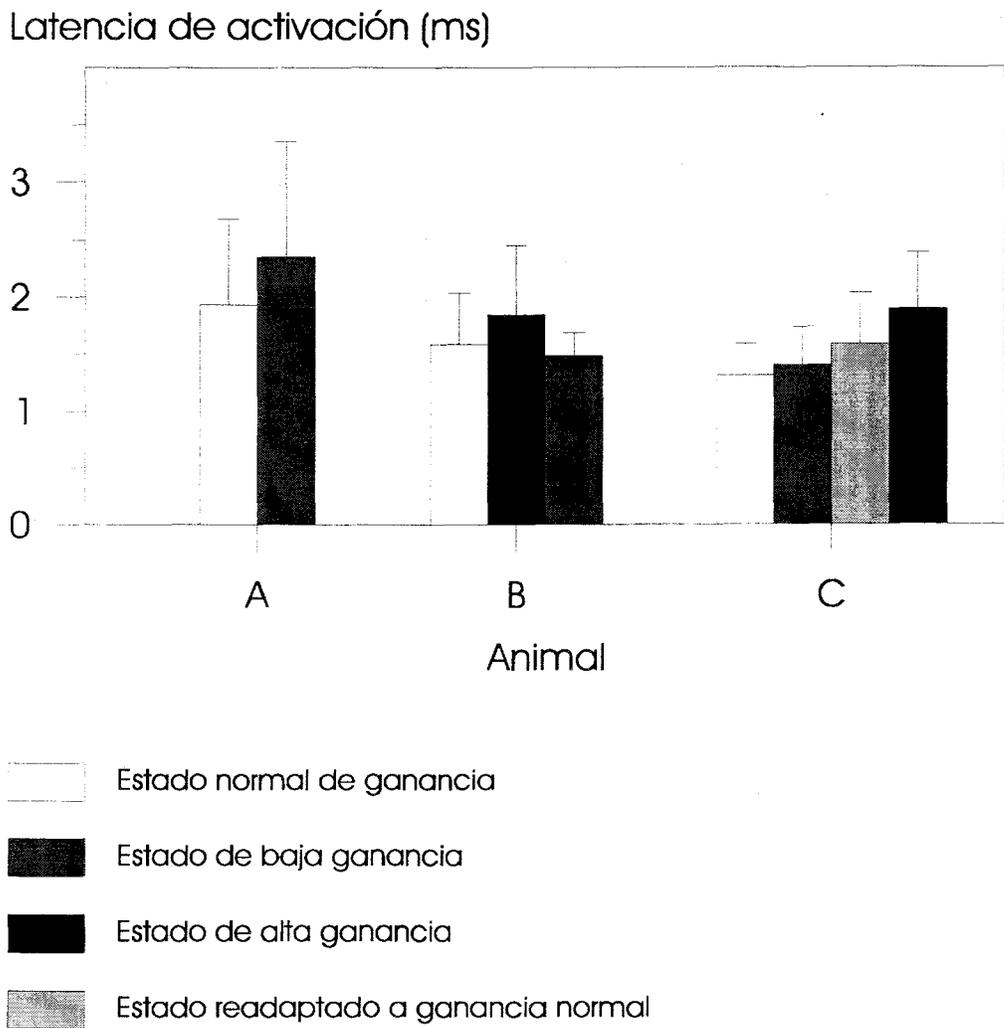


Figura 29. Estudio poblacional de la latencia de activación de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular homolateral en los monos A, B y C. Para cada mono se representa la media y la desviación típica en cada estado de ganancia del reflejo. En A se representan los valores obtenidos en el mono A, en B los valores obtenidos en el mono B y en C los obtenidos en el mono C.

3.1.2.3 Estimulación del nervio vestibular contralateral al lugar de registro

Dos monos se utilizaron en esta parte del experimento, monos A y C. La estimulación en el laberinto contralateral consistió en la mayoría de los casos en pulsos únicos de 100 μ s de duración y 350 μ A de intensidad.

La mayor parte de las neuronas registradas en el mono A mostró algún tipo de respuesta a la estimulación del nervio vestibular contralateral. En la mayoría de los casos fueron necesarios 100 pulsos de estimulación para obtener un histograma peri-estímulo adecuado para la medición de latencias. Las latencias de activación obtenidas en el mono A no fueron en ningún caso inferiores a 2 ms y en algunos casos superaron los 3 ms. En el mono A se encontraron 2 neuronas activadas desde el nervio vestibular contralateral. Sin embargo, el histograma peri-estímulo de 3 neuronas sugirió una posible activación polisináptica desde el nervio contralateral a latencias comprendidas entre 2,5 ms a 3,5 ms. Finalmente, en 2 casos no se observó relación entre el estímulo y la respuesta neuronal. En el mono C, ninguna neurona fue activada desde el nervio vestibular contralateral tras la adaptación del mono a alta o baja ganancia, aunque en más de la mitad de las neuronas se observó discontinuidad en el histograma post-estímulo a latencias comprendidas entre 2,5 y 3,5 ms, que podría indicar una entrada polisináptica contralateral de naturaleza inhibitoria

3.1.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de las latencias de activación observadas en el animal en estado normal de ganancia, comparado con el animal adaptado, se realizó una t- de Student para la

comparación de cada población neuronal. En todos los casos, se empleó como requisito para la validez del test un valor de significación (p) inferior a 0,05 ($P > 95\%$).

Comparamos las latencias de activación en la población de neuronas en el estado normal de ganancia con el resto de las poblaciones neuronales. Así, las diferencias fueron estadísticamente significativas entre la población de neuronas del mono A en estado normal respecto al estado adaptado a baja ganancia ($p = 0,0214$), y la población de neuronas del mono C en estado normal de ganancia respecto al estado adaptado a alta ganancia ($p = 0,0001$) y el estado readaptado a ganancia normal ($p = 0,0015$). Por el contrario, la población de neuronas registradas en el estado normal de ganancia en el mono C presentó una latencia de activación media que no fue significativamente diferente comparada con la población adaptada a baja ganancia ($p = 0,1118$) y la población del mono B en estado no adaptado respecto a la población de neuronas en estado adaptado a alta ganancia ($p = 0,1928$) y a baja ganancia ($p = 0,9643$).

3.2 EXPERIMENTO II. HISTOLOGIA

Un mono hembra (mono D) de 700 g de peso se utilizó en un experimento de marcaje retrógrado para localizar las neuronas aferentes a la porción dorsal del núcleo Y. En el resto de monos (A, B, C, D, E y F) se realizó una simple tinción de Nissl, para la reconstrucción de los tractos y el estudio de las lesiones realizadas para localizar la porción dorsal del núcleo Y.

3.2.1 Inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y

En el mono D se inyectó iontoforéticamente biocitina al 10% en solución Ringer en la porción dorsal del núcleo Y. Para ello se utilizaron pulsos de 700 ms de corriente a una frecuencia de 1 Hz, utilizando una corriente de +7 μ A, por un periodo de 20 minutos.

En la **figura 30** se muestra una fotografía del lugar de inyección. La inyección incluyó la parte más ventral del núcleo dentado anterior, la porción ventral del núcleo Y y la porción dorsal del núcleo Y. Sin embargo, el centro de la inyección se localizó en la porción dorsal del núcleo Y. El sitio de inyección se eligió atendiendo a las coordenadas estereotáxicas y a la respuesta electrofisiológica mostrada por las neuronas, registradas con el electrodo de cuarzo, a estimulaciones visual y vestibular (células con información referente a la velocidad de los ojos en el espacio).

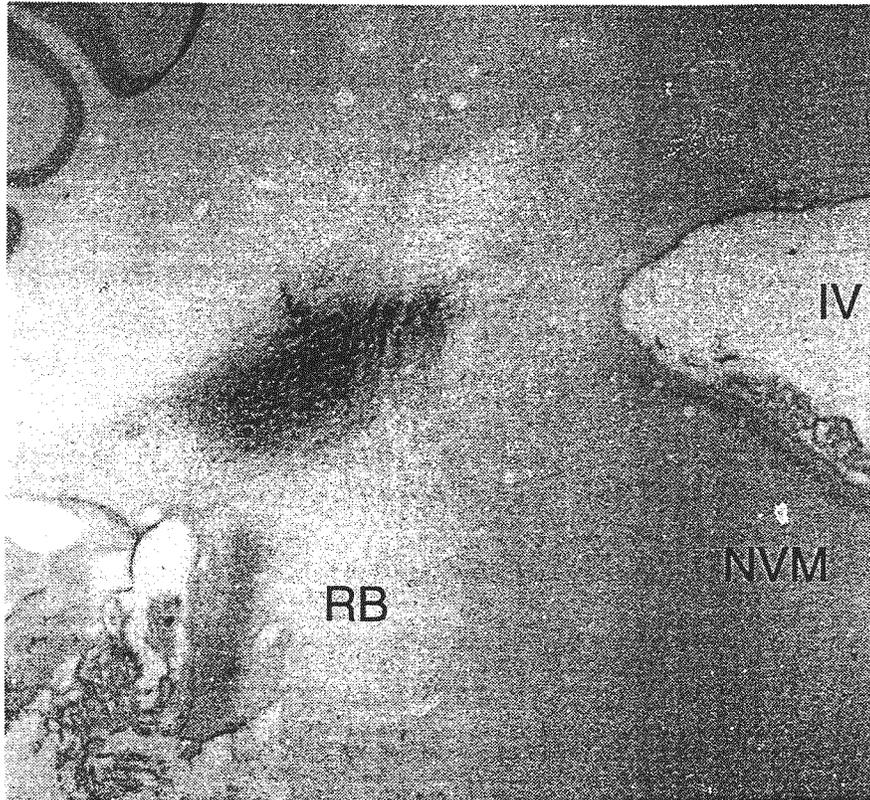


Figura 30. La fotografía muestra el sitio de inyección en el mono D. Para la inyección se utilizaron pulsos de corriente de 700 ms de duración y 7 μ A de intensidad a una frecuencia de 1 Hz por un periodo de 20 minutos. Abreviaturas: BC, braquium conjuntivum; CC, corteza cerebelosa; D, núcleo dentado; IV, cuarto ventrículo.

3.2.2 Transporte anterógrado de la biocitina

La biocitina inyectada fue transportada anterógrada y retrógradamente. Se encontraron terminales axónicos en diferentes porciones del núcleo oculomotor. Estas porciones correspondieron principalmente a la zona central del núcleo del motor ocular común contralateral (donde se ubican las motoneuronas del recto superior y oblicuo inferior). Un número muy escaso de botones sinápticos fue encontrado en la porción dorsal del núcleo Y contralateral. Sin embargo, no se observó ningún cuerpo celular en la porción dorsal del núcleo Y contralateral.

3.2.3 Transporte retrógrado de la biocitina

Aparecen neuronas retrógradamente marcadas en zonas cerebelosas; flóculo y paraflóculo ventral, así como zonas correspondientes al nódulo y úvula, y en zonas correspondientes al núcleo vestibular superior.

3.2.3.1 Neuronas marcadas en la corteza cerebelosa (flóculo y paraflóculo ventral)

El mayor número de neuronas marcadas tras la inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y se localizó en el flóculo y paraflóculo homolateral del cerebelo. También aparecieron células de Purkinje marcadas con biocitina a nivel del nódulo y la úvula homolateral. No se observó ningún soma de célula de Purkinje marcado en la zona contralateral del cerebelo.

En la **figura 32** se representa la localización de varias células de Purkinje que aparecieron marcadas con biocitina en uno de los cortes histológicos.

Las neuronas marcadas no se distribuyeron homogéneamente en el flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo, sino que parecieron adoptar una distribución en columnas verticales que se prolongaron a lo largo del eje antero-posterior del animal. Como se muestra en la **figura 33**, neuronas de Purkinje aparecieron también marcadas a lo largo de toda la extensión antero-posterior del flóculo y paraflóculo ventral.

3.2.3.2 Neuronas marcadas con biocitina en el núcleo vestibular superior homolateral

Tras la inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y izquierdo, aparecieron neuronas marcadas en los núcleos vestibulares. Con la excepción de 3 neuronas marcadas que se situaron dispersas en el núcleo vestibular medial homolateral, el resto de neuronas marcadas en los núcleos vestibulares se concentraron en el núcleo vestibular superior homolateral.

La **figura 34** muestra una representación esquemática de los lugares donde se localizaron las células marcadas con biocitina en el núcleo vestibular superior. Estas células se situaron en la zona más rostral y lateral del núcleo vestibular superior, a una distancia de 1,8 a 2,5 mm del lugar de inyección.

En la **figura 35** se muestran varios ejemplos representativos de las neuronas que se encontraron marcadas en el núcleo vestibular superior. Estas neuronas presentaron, por lo general, tamaños de sus somas (20-25 μm) similares a las neuronas vestibulares que proyectan a los

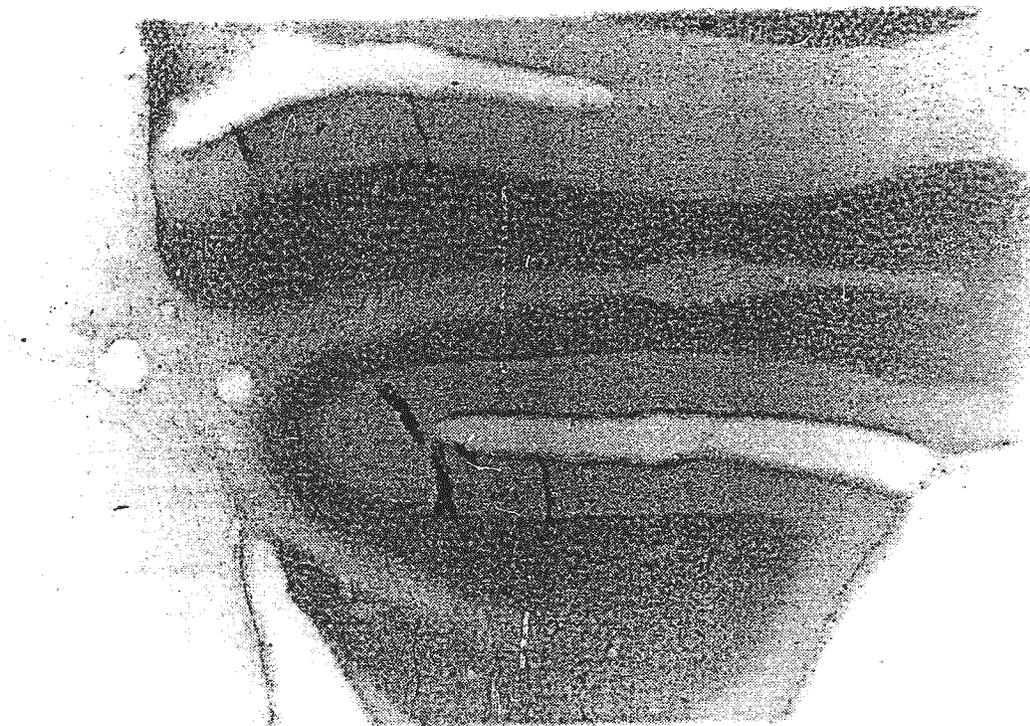


Figura 32. Fotografía tomada a cuatro aumentos de un corte coronal del flóculo del cerebelo homolateral. En la fotografía se pueden apreciar claramente la distribución en bandas de las células de Purkinje.

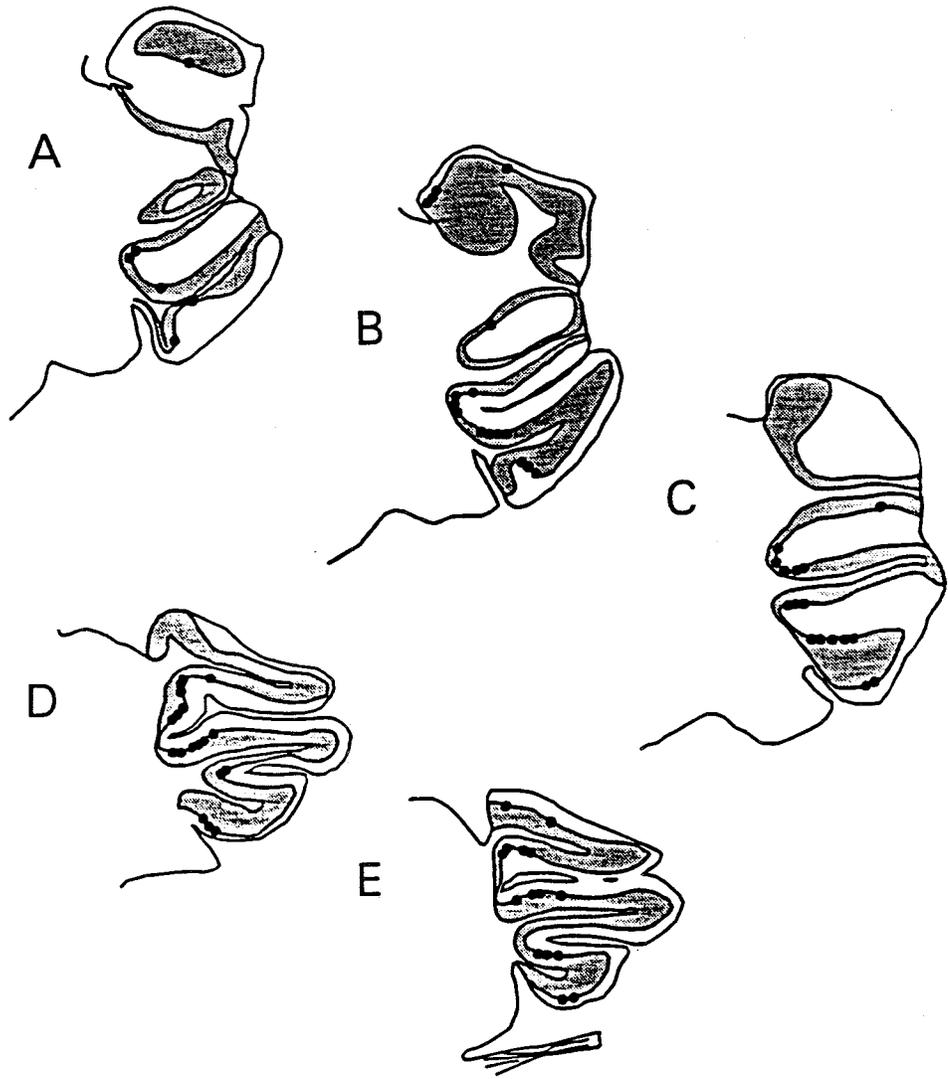


Figura 33. Diagrama representativo de la localización de las células de Purkinje en el flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo. Desde A a E (posterior a anterior) se representan cortes coronales a una separación de 0,8 mm. La capa de los granos se muestra en oscuro. Cada punto en negro muestra el sitio donde se encontraron células de Purkinje (el número de células de Purkinje por punto fue variable, de 3 a 5 células) y la localización de las células de Purkinje en negro. Como se puede observar, las células de Purkinje marcadas con biocitina se localizan a lo largo de toda la extensión antero-posterior del flóculo del cerebelo, y preferentemente en la zona interna de esta estructura.

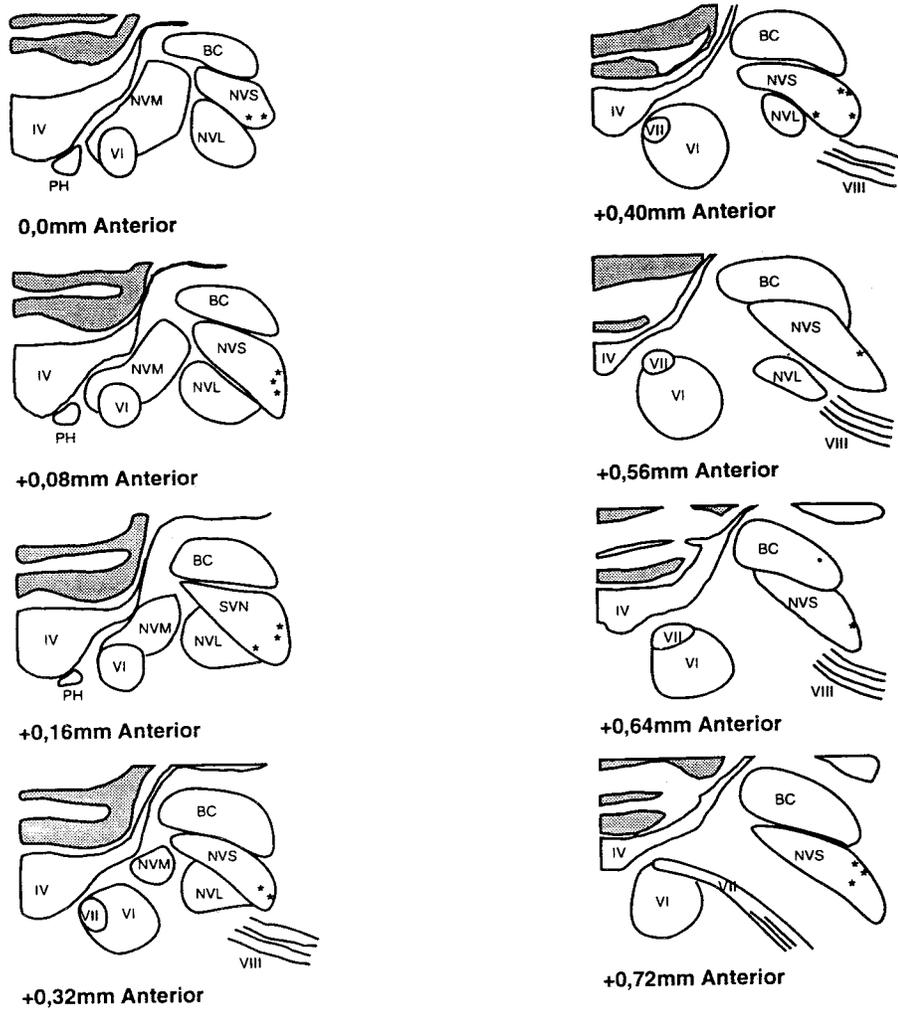


Figura 34. Localización de células marcadas retrógradamente en el núcleo vestibular superior tras la inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y homolateral. Los asteriscos marcan la posición donde se encontraron células marcadas con biocitina. El 0,0 antero-posterior se tomó a partir del lugar donde apareció la primera célula marcada en el núcleo vestibular superior. Abreviaturas: BC, braquium conjuntivo; NVN, núcleo vestibular lateral; MVN, núcleo vestibular medial; PH, núcleo prepositus hipoglossi; SVN, núcleo vestibular superior; IV, cuarto ventrículo; VI núcleo del motor ocular externo; VII, nervio facial; VIII, nervio vestibular.

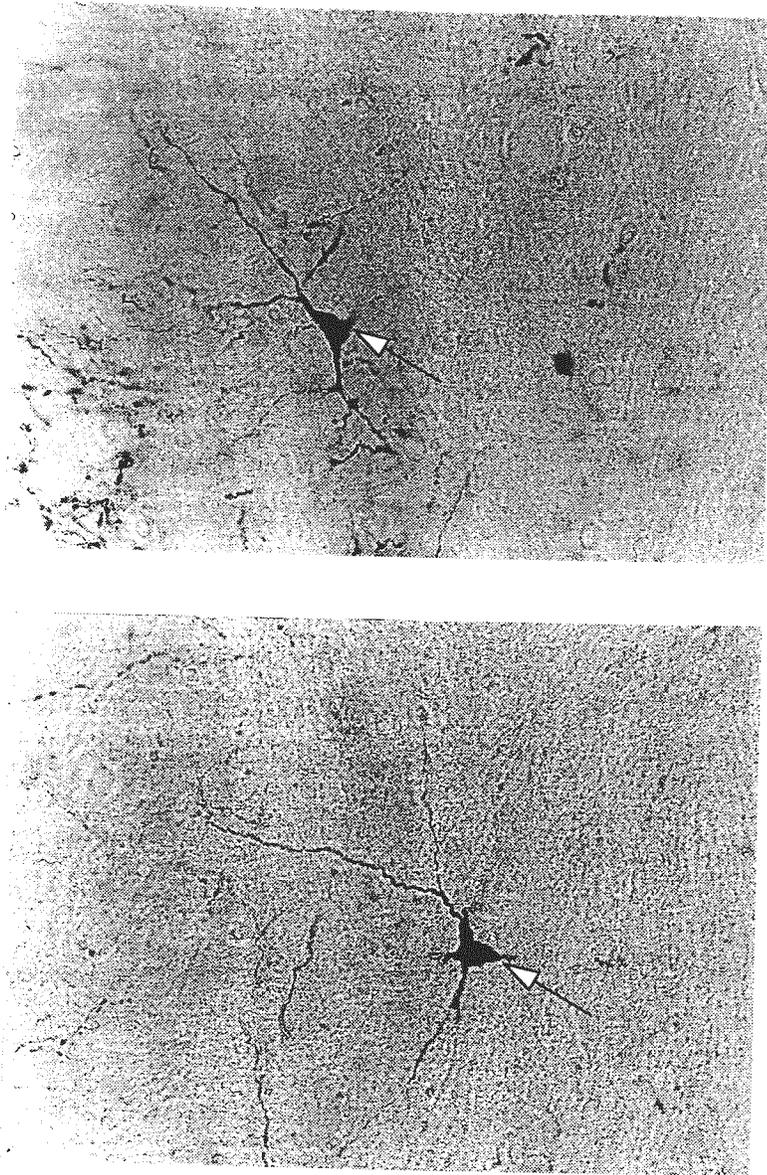


Figura 35. Fotografía tomada a 40 aumentos de dos células en el núcleo vestibular superior marcadas retrógradamente con biocitina. Se puede observar claramente el segmento inicial del axón (flecha), y la distribución bidireccional de las prolongaciones dendríticas.

núcleos oculomotores (premotoras), con dos o tres ramas dendríticas principales que se proyectaron desde polos separados de la célula. Estas dendritas primarias se dividen posteriormente produciendo dos o tres ramas dendríticas adicionales por cada nodo. En la mayor parte de las ocasiones, la arborización dendrítica sólo se pudo seguir fielmente hasta la dendrita secundaria o terciaria.

3.3 EXPERIMENTO III. RESPUESTA DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO VESTIBULAR SUPERIOR TRAS LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN LA PORCIÓN DORSAL DEL NÚCLEO Y

Para este experimento se utilizó un mono ardilla macho, mono E, y un mono ardilla hembra, mono F, de 800 y 600 g de peso, respectivamente. El objeto de este experimento fue encontrar pruebas electrofisiológicas, de activación antidrómica, que reforzaron la idea de una entrada directa desde el núcleo vestibular superior homolateral hacia la porción dorsal del núcleo Y. Como punto de referencia se utilizaron los resultados obtenidos tras la inyección de biocitina en la porción dorsal de núcleo Y. Así, dirigimos nuestros registros hacia la zona de los núcleos vestibulares donde se concentró el mayor número de células marcadas retrógradamente con biocitina.

3.3.1 Diseño experimental

En ambos monos se colocaron dos cámaras de registro: i) una para los registros extracelulares y la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y, y ii) otra para los registros extracelulares en el núcleo vestibular superior.

En la primera fase del experimento, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se identificaron atendiendo a sus respuestas electrofisiológicas durante estimulación combinada visuo-vestibular, así como atendiendo a su localización respecto al núcleo del motor ocular externo homolateral. Sólo aquellas zonas que presentaron neuronas con información referente a la

velocidad de los ojos en el espacio (supuestamente neuronas de la porción dorsal del núcleo Y) se consideraron para la posterior estimulación eléctrica (ver Material y Métodos). La porción dorsal del núcleo Y se localizó, en ambos monos, a 2,5 mm posterior y 2,5-3,0 mm lateral del centro del núcleo del motor ocular externo.

Una vez localizada la porción dorsal del núcleo Y, se realizaron varios tractos en el núcleo vestibular superior, utilizando para ello la segunda cámara de registro. Sólo aquellas células del núcleo vestibular superior que presentaron señal de velocidad de la cabeza fueron utilizadas para estudios de conexiones antidrómicas con la porción dorsal del núcleo Y. El área de estudio comprendió casi exclusivamente la porción antero-lateral del núcleo vestibular superior. La distancia estimada entre el electrodo localizado en la porción dorsal del núcleo Y dorsal y el electrodo localizado en el núcleo vestibular superior fue de 2,0 a 2,5 mm.

3.3.2 Estudio del potencial de campo generado en el núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y

La corriente utilizada para la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y varió de unos casos a otros pero fue siempre inferior a 150 μ A. En todos los casos la duración del pulso fue de 40 μ s.

En la **figura 36A** se muestra un ejemplo del potencial de campo antidrómico generado en la porción rostro-lateral del núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y. La latencia de los potenciales de campo obtenidos en el núcleo vestibular superior varió entre 0,5 a 0,6 ms. En la misma figura se presenta el intervalo mínimo de la doble activación para este potencial de campo. En esta prueba se utilizaron dos pulsos de estimulación

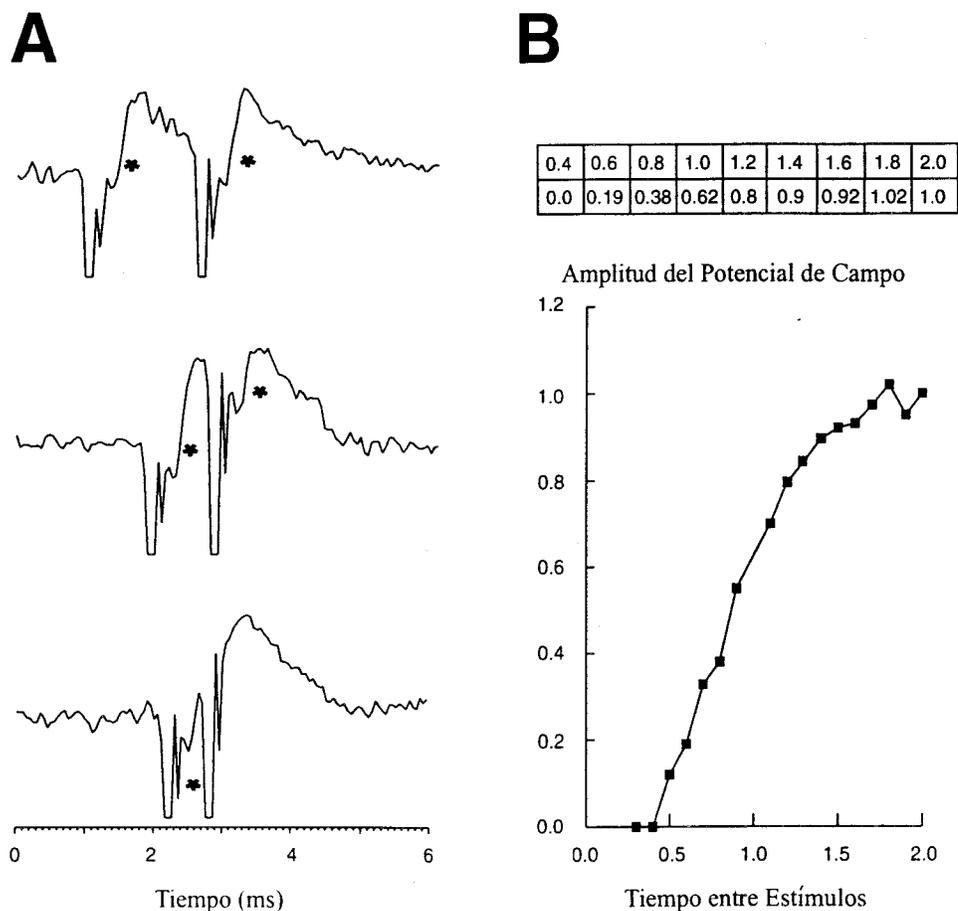


Figura 36. Potencial de campo registrado en la porción rostro-lateral del núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y. Para la estimulación eléctrica se utilizaron pulsos simples de $100 \mu A$ de intensidad y $40 \mu s$ de duración. A, potenciales de campo registrados tras la estimulación doble antidrómica a distintos intervalos. La aparición del potencial de campo se hace notar en la gráfica por la presencia de un asterisco. B, cambios en la amplitud del potencial de campo antidrómico en función del intervalo de separación de la doble estimulación. La tabla en la parte superior muestra los valores obtenidos para algunos de los puntos representados en la gráfica. La amplitud del potencial de campo está normalizada. Para ello se tomó como unidad la amplitud del potencial de campo generado en el electrodo de registro cuando sólo se utilizó un pulso de estimulación ($100 \mu A$ y $40 \mu s$).

de 100 μ A de amplitud y 40 μ s de duración. También en la **figura 36A** se muestra que, para una separación entre ambos pulsos inferior a 0,4 ms, no fue posible generar un potencial de campo tras el segundo pulso de estimulación, indicando la naturaleza antidrómica y no sináptica de dicho potencial.

La amplitud del potencial de campo generado en el polo rostró-lateral del núcleo vestibular superior se representa en valores normalizados en la **figura 36B**. Para la normalización se tomó el valor del potencial de campo observado en el núcleo vestibular superior tras la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y mediante un pulso único de estimulación. Así, los valores mostrados en la tabla de la **figura 36B** se obtuvieron al dividir el potencial de campo generado tras el segundo pulso de estimulación por el valor del potencial de campo cuando sólo se utilizó un pulso en la estimulación. El intervalo temporal entre los dos pulsos afectó directamente a la amplitud del potencial de campo generado tras el segundo pulso para separaciones entre los pulsos inferiores a 1,0 ms.

3.3.3 Características electrofisiológicas de las neuronas de la porción rostró-lateral del núcleo vestibular superior. Respuesta tras la estimulación de la porción dorsal del núcleo Y

Como se mencionó anteriormente, sólo se estudiaron aquellas neuronas del núcleo vestibular superior que presentaron algún tipo de señal de velocidad de la cabeza. Para ello se estudió la respuesta de las neuronas durante estimulación vestibular en la luz.

En nuestro diseño experimental pretendíamos aclarar el origen de la señal de velocidad de la cabeza que alcanza a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. Neuronas con señal de

velocidad de los ojos en su órbita o con señal de velocidad de los ojos en el espacio, no se encontraron en nuestras sesiones de registro en la porción antero-lateral del núcleo vestibular superior. Neuronas con señales de posición ocular y velocidad de la cabeza, y neuronas con sensibilidad a la velocidad de la cabeza con respuesta inhibitorias para sacádicos, fueron escasas dentro de la población estudiada (polo rostro-lateral del núcleo vestibular superior). La mayor parte de las neuronas con señal de velocidad de la cabeza estudiadas, presentaron únicamente respuesta a movimientos de la cabeza, señal de velocidad de la cabeza. Estas últimas fueron las únicas neuronas que presentaron activación antidrómica tras la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y. Dentro de esta población neuronal sólo ciertas neuronas se activaron antidrómicamente tras la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y.

3.3.3.1 Características electrofisiológicas de las neuronas del núcleo vestibular superior no activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y

Como se comentó anteriormente, sólo se estudió la posible activación antidrómica en aquellas neuronas que presentaron sensibilidad a los movimientos de la cabeza.

3.3.3.1.1 Respuesta durante movimientos oculares espontáneos

Las neuronas con señal de velocidad de la cabeza en el espacio, no activadas desde la porción dorsal del núcleo Y, presentaron por lo general un disparo regular, con una frecuencia de disparo basal de $62,4 (\pm 20,6)$ potenciales de acción por segundo. En la **figura 37** se muestra una de estas neuronas durante movimientos oculares espontáneos en el mono E. Como se puede

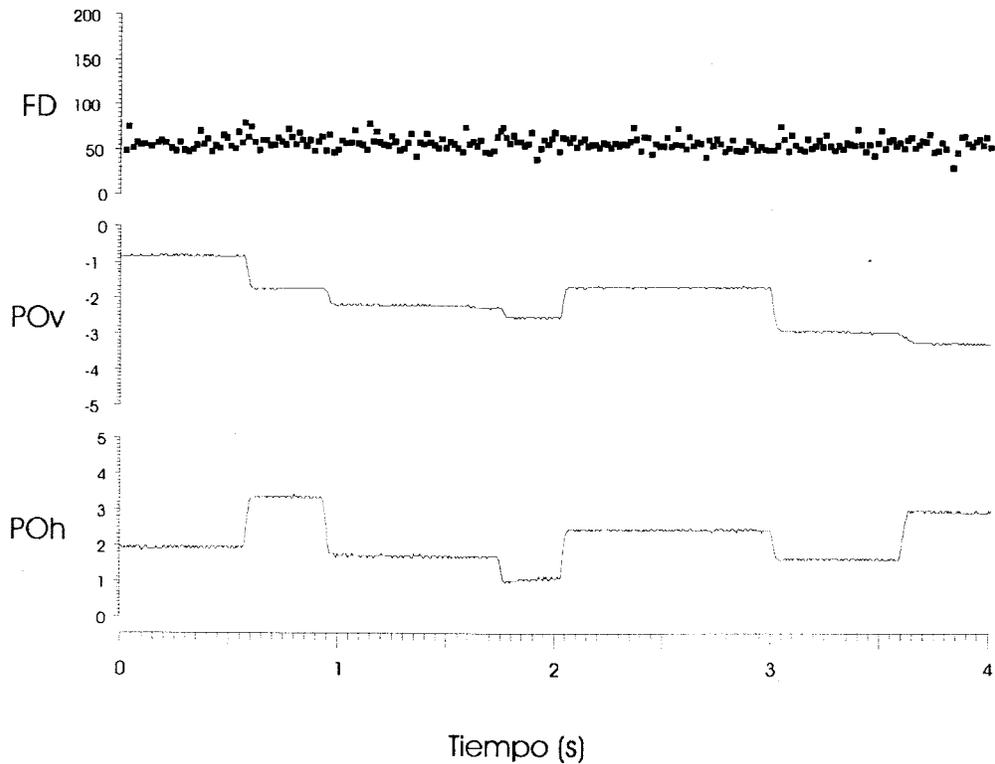


Figura 37. Patrón de disparo de una neurona del núcleo vestibular superior con señal de velocidad de la cabeza, no activada desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y, durante movimientos oculares espontáneos. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo (en potenciales de acción/segundo); POh, posición de los ojos en el plano horizontal (en grados); POv, posición de los ojos en el plano vertical (en grados).

observar en la figura, estas neuronas no mostraron respuesta a los movimientos sacádicos, ni a la posición ocular. Así el disparo de la neurona no se vio afectado por parámetros oculares.

3.3.3.1.2 Respuesta en condiciones de estimulación visual o vestibular

Las neuronas registradas en el núcleo vestibular superior no presentaron señales de velocidad de los ojos en su órbita o de velocidad de los ojos en el espacio, o bien estas fueron demasiado débiles para ser medibles con precisión por nuestro método de análisis, pero sí mostraron una buena respuesta a los movimientos de la cabeza en el plano vertical (**figura 38**).

En total se registraron 31 neuronas, en el mono E y F, con señal de velocidad de la cabeza no activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y homolateral. De estas, 18 neuronas mostraron un aumento en su tasa de disparo para movimientos ascendentes de la cabeza, y 13 neuronas mostraron un aumento en su tasa de disparo para movimientos descendentes de la cabeza. Las primeras presentaron una sensibilidad a los movimientos de la cabeza de $0,5 (\pm 0,315)$ potenciales de acción por segundo por grado por segundo, mientras que las segundas presentaron una sensibilidad de $0,504 (\pm 0,294)$ potenciales de acción por segundo por grado por segundo. La diferencia de fase respecto a los movimientos de la cabeza fue de $-29,67 (\pm 9,7)$ grados, para las neuronas que aumentaron su tasa de disparo durante movimientos ascendentes de la cabeza, y $-192 (\pm 10,7)$ grados para aquellas neuronas que aumentaron su tasa de disparo durante movimientos descendentes de la cabeza.

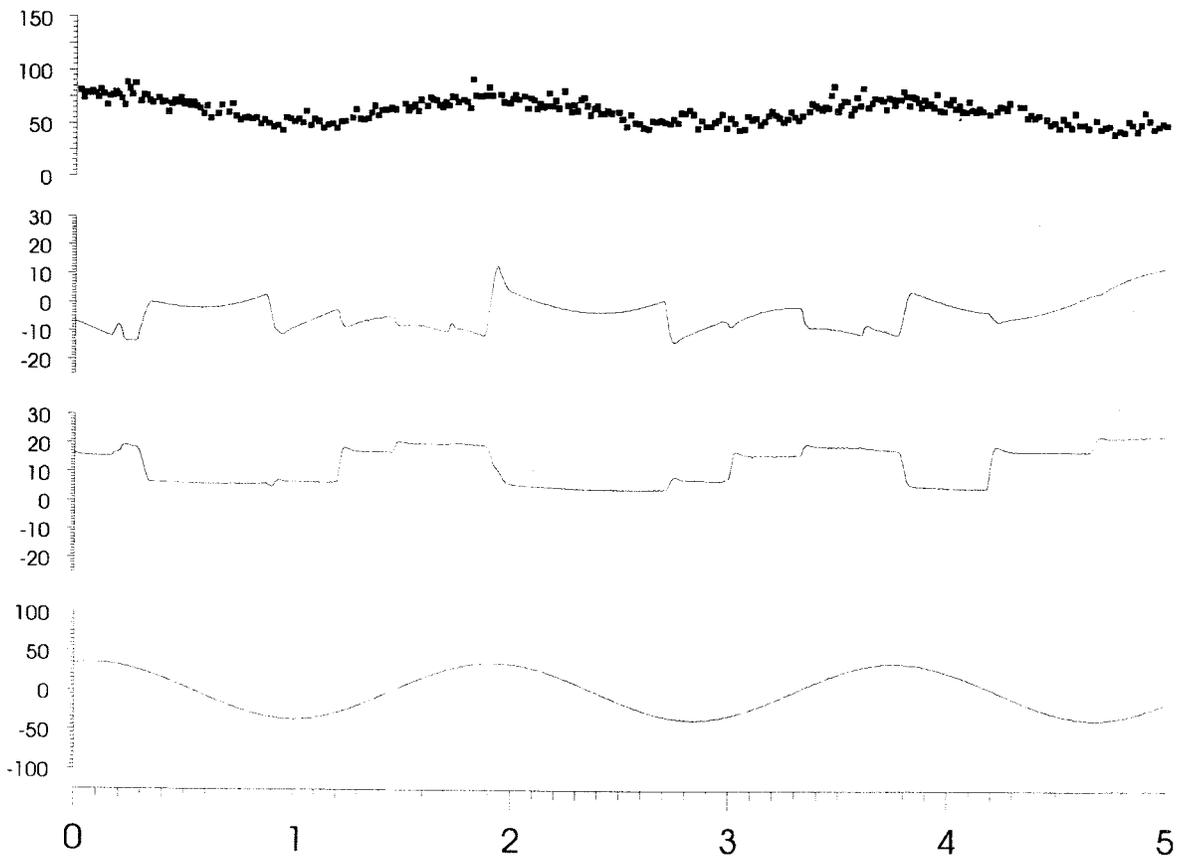


Figura 38. Patrón de disparo de una neurona del núcleo vestibular superior con señal de velocidad de la cabeza, no activada desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y, durante rotaciones de la cabeza en el plano vertical. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo (en potenciales de acción/segundo); PO_h, posición de los ojos en el plano horizontal (en grados); PO_v, posición de los ojos en el plano vertical (en grados).

3.3.3.2 Características electrofisiológicas de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y

En los tres apartados siguientes se detallan las propiedades funcionales de las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y. Primero se detallan las características de su activación antidrómica. A continuación, se detalla la respuesta de estas neuronas durante movimientos oculares espontáneos y durante estimulación visual y vestibular.

3.3.3.2.1 Respuesta tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y

Un total de 21 neuronas en el núcleo vestibular superior (8 en el mono E y 13 en el mono F) se activaron antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y. La latencia media de activación antidrómica fue de 0,6 ms (máxima 0,8 ms, mínima 0,5 ms). En todos los casos la activación antidrómica se demostró mediante la realización de un test de colisión. En el test de colisión se utilizó como sincronizador el disparo de la neurona registrada en el núcleo vestibular superior. La colisión ocurrió para separaciones, entre el potencial de acción desencadenante y la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y, de 0,4 a 0,7 ms.

La **figura 39** muestra dos neuronas activadas antidrómicamente tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y. En esta figura se presentan 2 trazos superpuestos en cada célula. En la parte superior de la **figura 39A y B** se muestra la aparición del potencial de acción, en los dos trazos, tras la estimulación eléctrica en la porción dorsal del núcleo Y. Ambas

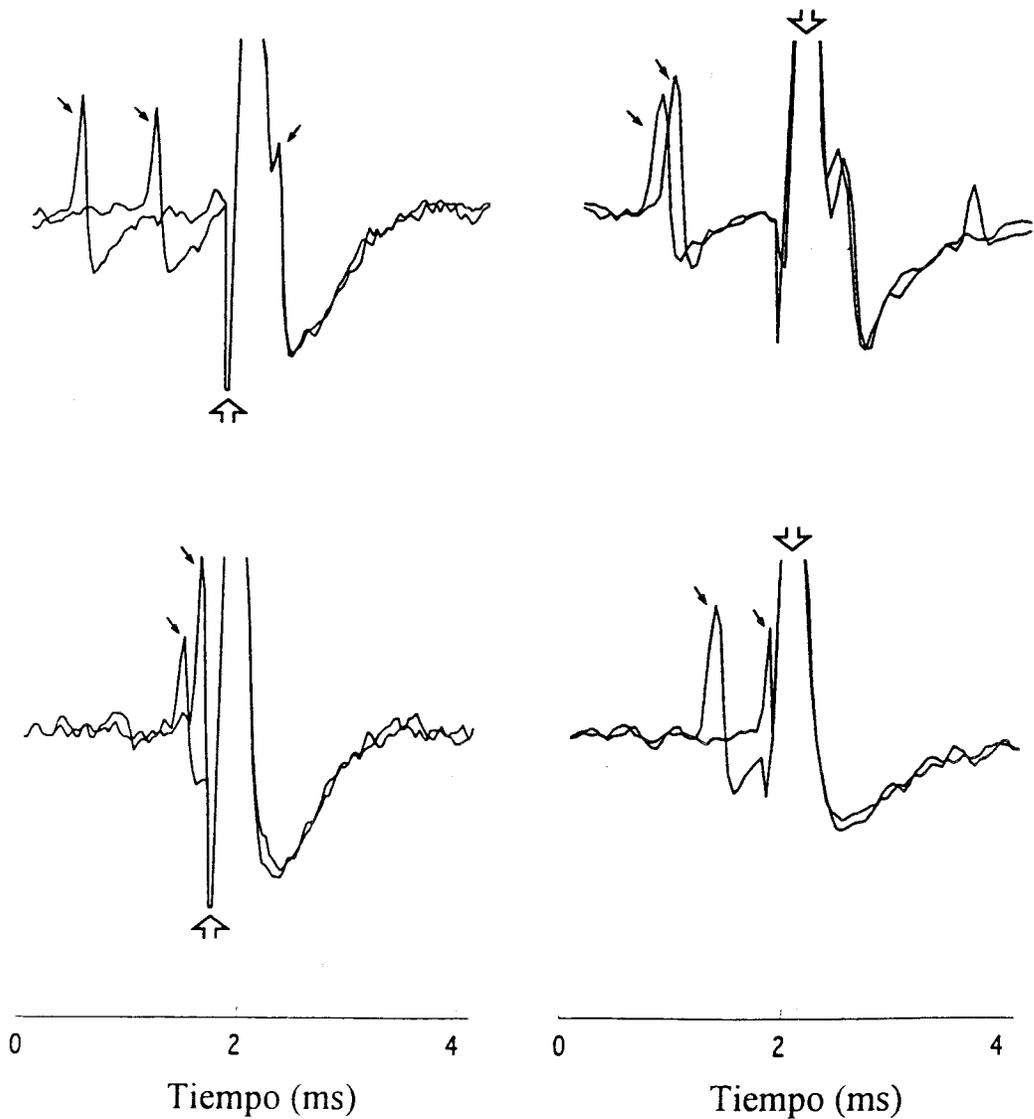


Figura 39. Test de colisión para dos neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y. Como sincronizador para el test de colisión se utilizó el potencial de acción espontáneo de la célula registrada en el núcleo vestibular superior. Las flechas negras indican la presencia de potenciales de acción, y las flechas blancas el artefacto de estimulación.

células (**figura 39A y B**) se activaron a una latencia aproximada de 0,58 ms. Como se puede observar, el test de colisión ocurre para separaciones menores de 0,5 ms en la célula A y para separaciones menores de 0,6 ms para la célula B.

3.3.3.2.2 Respuesta durante movimientos oculares espontáneos

Durante movimientos espontáneos, las neuronas activadas antidrómicamente en el núcleo vestibular superior presentaron una tasa de disparo irregular, con una tasa basal de disparo de 39,5 ($\pm 14,7$) potenciales de acción por segundo. En ningún caso estas neuronas mostraron sensibilidad para posiciones verticales u horizontales del ojo, ni para los movimientos sacádicos (**figura 40**). Una característica típica de estas neuronas fue su alta irregularidad en la tasa de disparo.

3.3.3.2.3 Respuesta en condiciones de estimulación visual o vestibular

Las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y presentaron una respuesta variable durante estimulación vestibular en cuanto a su fase y en menor medida en cuanto a su ganancia. La estimulación vestibular utilizada consistió en rotaciones sinusoidales de 0,5-0,7 Hz con una amplitud cero a pico de 40-60 grados por segundo. Se estudió la respuesta de 21 neuronas activadas antidrómicamente desde el grupo Y dorsal. En la mayor parte de los casos en el mono E y en una pequeña proporción de los casos en el mono F, la estimulación vestibular se produjo con el animal inclinado 40 grados hacia la derecha, con la cabeza en el centro de giro. En un menor número de casos en el mono E y en la mayoría de casos en el mono F, la respuesta de las neuronas se estudió con el animal inclinado 90 grados hacia la derecha (completamente en el plano vertical).

En el mono E, 3 neuronas presentaron un aumento en su tasa de disparo para movimientos ascendentes de la cabeza, mientras que 4 neuronas presentaron un aumento en su tasa de disparo

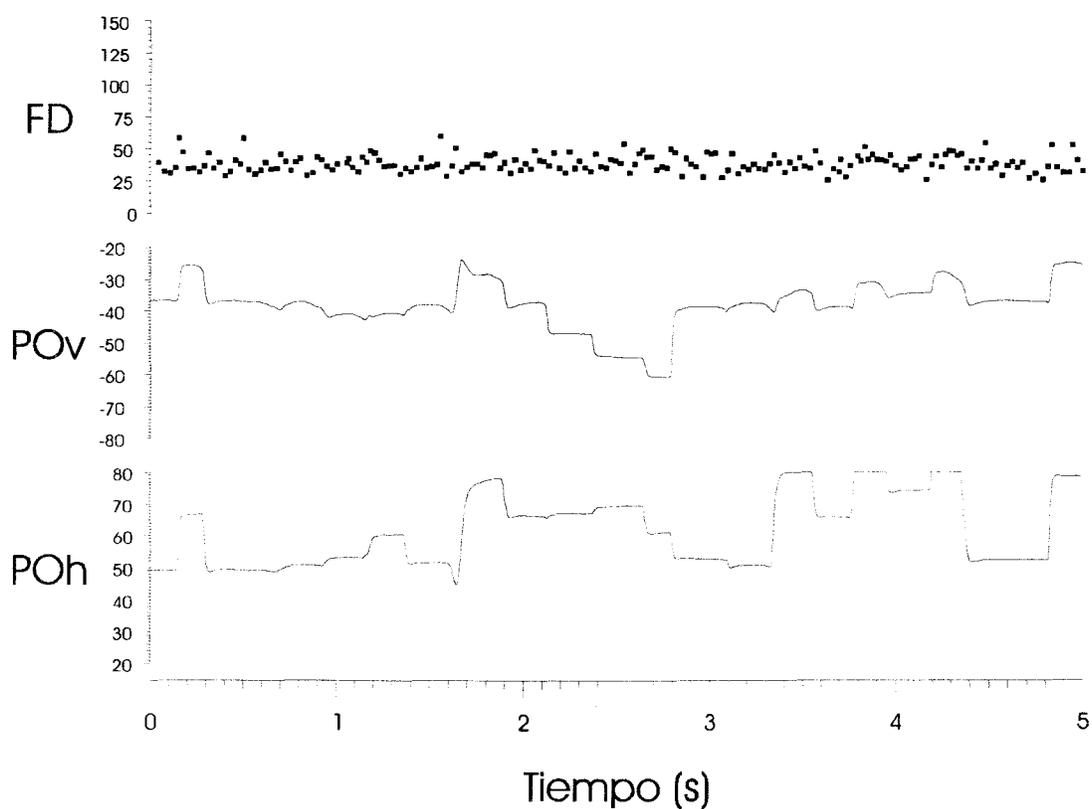


Figura 40. Características de disparo de una neurona del núcleo vestibular superior con señal de velocidad de la cabeza, activada desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y, durante movimientos oculares espontáneos. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo (en potenciales de acción/segundo); POh, posición de los ojos en el plano horizontal (en grados); POv, posición de los ojos en el plano vertical (en grados).

para movimientos descendentes de la cabeza. Adicionalmente, 2 neuronas no pudieron ser clasificadas como neuronas con respuesta en fase o fuera de fase respecto al movimiento de la cabeza. En el mono F, 2 neuronas presentaron un aumento en su tasa de disparo para movimientos ascendentes de la cabeza, mientras que 10 neuronas presentaron un aumento en su tasa de disparo durante movimientos descendentes de la cabeza. La **figura 41** muestra dos de las neuronas activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y en el mono F. Durante parte del registro mostrado en la **figura 41**, el animal está dormido, sin embargo, la sensibilidad de la neurona no cambió. Estas neuronas modularon únicamente durante rotaciones de la cabeza, y su frecuencia de disparo se mostró independiente de los movimientos oculares.

En la **figura 42** se muestra la población completa de células obtenidas en los monos E y F. La mayor parte de las células obtenidas presentaron un comportamiento en fase ($n = 6$), o fuera de fase ($n = 11$), respecto al movimiento de la cabeza.

3.3.3.3 Diferencias entre las neuronas con señal de velocidad de la cabeza activadas antidrómicamente y no activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y

Las principales diferencias entre estas dos poblaciones neuronales en el núcleo vestibular superior están basadas en su tasa basal de disparo, su regularidad, en su fase respecto al movimiento de la mesa y en su localización.

La tasa basal de disparo fue sensiblemente inferior para aquellas neuronas activadas antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y. Las neuronas que no fueron activadas antidrómicamente presentaron una tasa de disparo de $62,4 (\pm 20,6)$

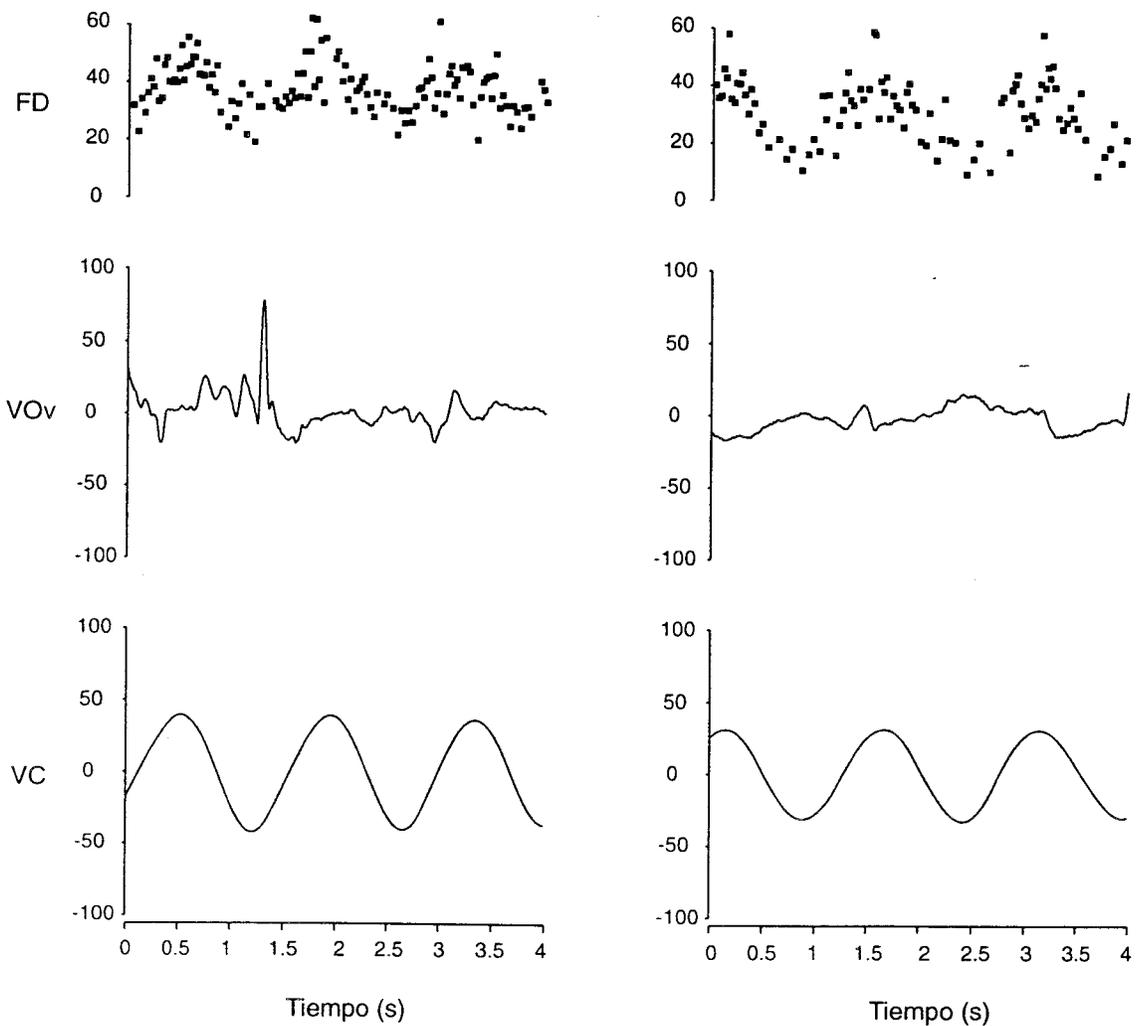


Figura 41. Patrón de disparo de dos neuronas del núcleo vestibular superior con señal de velocidad de la cabeza, activadas antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y, durante rotaciones de la cabeza en el plano vertical. Abreviaturas: FD, frecuencia de disparo (en potenciales de acción/segundo); POh, posición de los ojos en el plano horizontal (en grados); POv, posición de los ojos en el plano vertical (en grados).

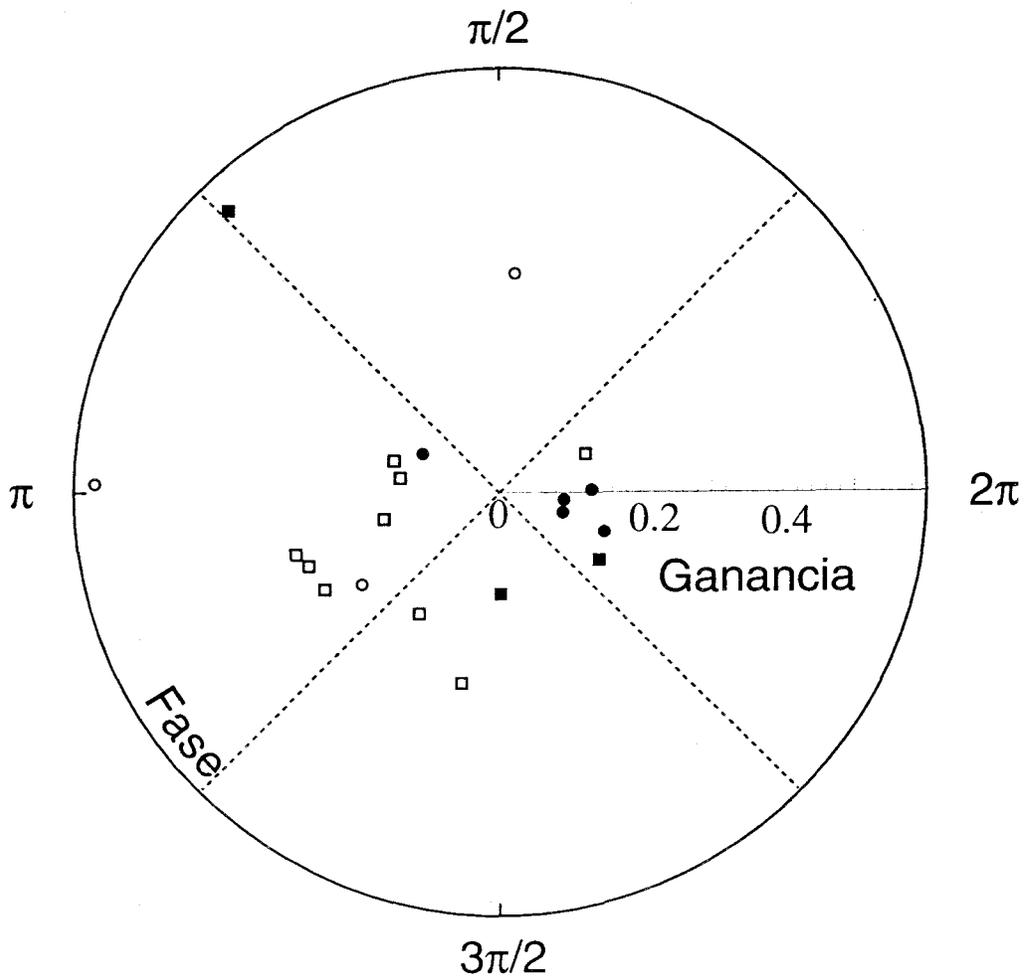


Figura 42. Diagrama polar de la respuesta mostrada por las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y. Los círculos representan aquellas neuronas registradas en el mono E, los cuadrados aquellas neuronas registradas en el mono F. Los símbolos negros corresponden a neuronas registradas durante rotaciones sinusoidales de la cabeza con el animal inclinado 45 grados hacia la derecha. Los símbolos blancos corresponden a neuronas registradas durante rotaciones sinusoidales con el animal inclinado 90 grados hacia la derecha.

potenciales de acción por segundo, frente a las neuronas activadas que presentaron una tasa de disparo aproximada de $39,5 (\pm 14,7)$ potenciales de acción por segundo.

En cuanto a la regularidad, las neuronas activadas antidrómicamente se mostraron más irregulares en su tasa de disparo que aquellas no activadas antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y. La **figura 43** muestra un ejemplo de estos dos tipos de neuronas del núcleo vestibular superior. En la parte inferior de la figura se muestra la distribución de los intervalos entre potenciales de acción de cada una de estas dos células en ausencia de estimulación vestibular. El grado de dispersión de estos intervalos se utiliza en esta figura como método ilustrativo de la regularidad de dos neuronas del núcleo vestibular superior. La célula de la derecha se activada antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y, mientras que la célula mostrada a la izquierda de la figura no. La neurona de la izquierda es una neurona con un disparo muy regular (aproximadamente de 50-60 potenciales de acción por segundo), mientras que la neurona de la derecha es una célula de disparo irregular (aproximadamente de 25 a 60 potenciales de acción por segundo)

En cuanto a la ganancia, las neuronas activadas antidrómicamente desde el electrodo localizado en la porción dorsal del núcleo Y presentaron unas ganancias menores que aquellas no activadas antidrómicamente. Las primeras mostraron por lo general ganancias menores de 0,5 potenciales de acción por segundo por grado por segundo mientras que las segundas mostraron en la mayor parte de las ocasiones ganancias mayores de 0,5 potenciales de acción por segundo por grado por segundo (ver **figura 42**).

En cuanto a la fase, los valores obtenidos en la población de neuronas activadas antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y fueron bastante heterogéneos, al contrario de lo que ocurrió con la población de neuronas no activadas desde el

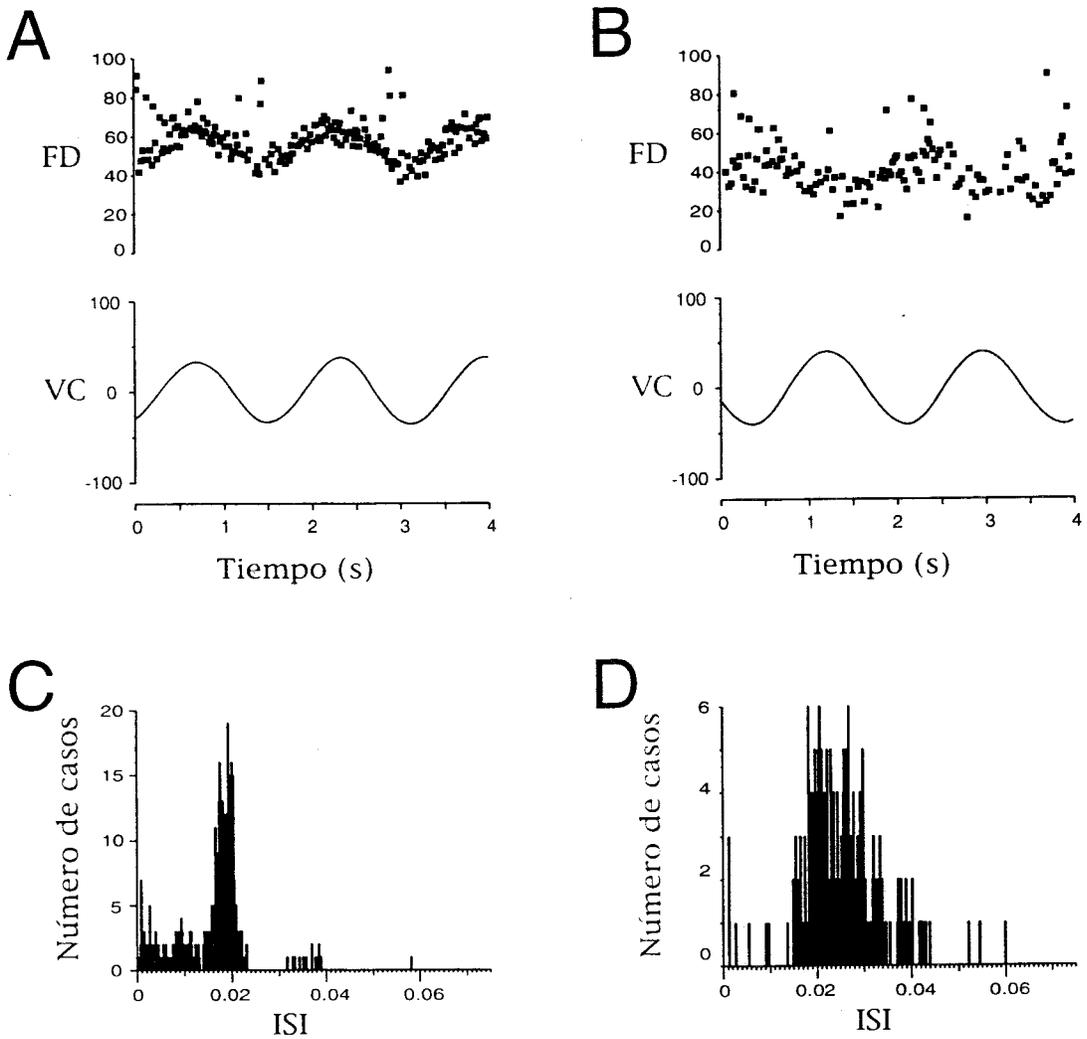


Figura 43. En A y B, respuesta de dos células registradas en el núcleo vestibular superior durante estimulación vestibular en el plano vertical. C y D muestran el análisis de autocorrelación, intervalo de tiempo entre potenciales de acción (ISI), para cada una de las células representadas en A y B durante movimientos oculares espontáneos. La célula en A no fue activada antidrómicamente desde el electrodo situado en la porción dorsal del núcleo Y (utilizando pulsos de corriente de $150 \mu\text{A}$, $40 \mu\text{s}$), mientras que la célula en B fue antidrómicamente activada tras la estimulación en la porción dorsal del núcleo Y (utilizando pulsos de corriente de $60 \mu\text{A}$ y $40 \mu\text{s}$).

núcleo Y. A pesar de ello, la mayoría de las neuronas respondieron en fase o fuera de fase con el movimiento de la cabeza (ver **figura 42**).

En cuanto a la localización, en la **figura 44** se muestra un mapa de la localización de ambas poblaciones neuronales en el núcleo vestibular superior, registradas en los monos E y F. Las neuronas activadas antidrómicamente se localizaron en porciones laterales dentro del núcleo vestibular superior, mientras que las neuronas no activadas antidrómicamente se encontraron principalmente en posiciones más mediales en el núcleo vestibular superior. Las coordenadas del mapa representado en la **figura 44** están tomadas en referencia a la posición del núcleo del motor ocular externo.

4 DISCUSIÓN

El aprendizaje motor del reflejo vestibulo-ocular ha sido objeto de un intenso estudio y controversia durante las tres últimas décadas. Así, los registros electrofisiológicos en diferentes estructuras del sistema nervioso central han ubicado el sitio donde residen los cambios plásticos del reflejo en el cerebelo o en el tronco del encéfalo (Dianne y col., 1992; Ito y col., 1982; Lisberger., 1984; Miles y col., 1980; Miles y Lisberger, 1981; Nagao, 1989; Robinson, 1976). Hasta el momento no ha sido posible llegar a un consenso en este punto, ya que los resultados experimentales no parecen aclarar por completo esta pregunta. Sabemos, sin embargo, que ciertas neuronas muestran cambios en su respuesta fisiológica paralelos a los cambios comportamentales observados durante el aprendizaje motor. A pesar de ello, el que una estructura muestre cambios durante el aprendizaje no quiere decir necesariamente que sea objeto de cambios plásticos, puede igualmente ocurrir que muestre los cambios plásticos acaecidos en un nivel previo del procesamiento de la información.

Pensamos que la mejor manera de aclarar el lugar o los lugares donde ocurren estos cambios plásticos con el aprendizaje en el reflejo vestibulo-ocular es comenzar por el estudio de las conexiones de aquellas estructuras que se conoce muestran un cambio apreciable en su respuesta tras el aprendizaje motor. Por consiguiente, primero cabe una localización de las neuronas que envían información a las zonas que se conoce muestran cambios en su respuesta. Segundo, se deberá analizar una por una esas estructuras y, de este modo, averiguar si ellas también muestran cambios con el aprendizaje. Si es así, se deberá continuar hasta encontrar aquellas zonas que no muestren cambios con el aprendizaje. Una vez encontradas esas zonas volveremos al paso anterior y lo propondremos como posible lugar donde ocurren los cambios plásticos.

Partsalis y col. (1995a) demostraron que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan cambios apreciables en su respuesta durante la adaptación del reflejo vestibulo-ocular

vertical. Se conoce que la información que llega a esta estructura tiene principalmente dos orígenes: i) una es de carácter inhibitor, y procede de la corteza cerebelosa, principalmente del flóculo y paraflóculo ventral cerebelosos (Langer y col., 1985b; Partsalis y col., 1995b; Sato y col., 1982), y ii) otra es de origen vestibular y tiene carácter excitador (no se excluyen conexiones inhibitorias aunque aún no se han demostrado experimentalmente) (Partsalis y col., 1995a; Sato y col., 1987). El presente trabajo se propuso con el objetivo de aclarar el origen de la entrada vestibular a la porción dorsal del núcleo Y. Para ello se utilizaron técnicas de estimulación e identificación antidrómica junto con técnicas de registro extracelular y técnicas histológicas.

El principal hallazgo de los estudios presentados en este trabajo es que representan la primera descripción y localización de las interneuronas que envían la señal vestibular a las neuronas de la porción dorsal de núcleo Y.

4.1 Latencia de activación sináptica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del VIII par craneal

En el presente trabajo se identificaron neuronas de la porción dorsal del núcleo Y de acuerdo con criterios estereotáxicos, tomando para ello como referencia la posición del núcleo del motor ocular externo homolateral, así como atendiendo a las respuestas electrofisiológicas de estas neuronas durante estimulación vestibular y visual (Chubb y Fuchs, 1982; Partsalis y col., 1995a, b; Sato y Kawasaki, 1987). Adicionalmente, en aquellos casos donde se adaptó al mono a diferentes estados de ganancia, se corroboraron los resultados obtenidos por estudios anteriores (Partsalis y col., 1995a, b) demostrándose un cambio en el patrón de disparo de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad. Para todas aquellas neuronas que presentaron sensibilidad a la velocidad de los ojos en el espacio (catalogadas como

neuronas de la porción dorsal del núcleo Y) se estudió su conexión con el nervio vestibular homolateral y contralateral utilizando criterios basados en la latencia de activación sináptica.

4.1.1 Conexión con el VIII par craneal homolateral

Nuestro protocolo experimental no nos permitió diferenciar entre aferentes procedentes del canal semicircular anterior y posterior, debido a la localización de los electrodos de estimulación. Los pulsos de estimulación a través de los electrodos colocados en el oído interno afectan igualmente los tres canales semicirculares, el utrículo y el sáculo. Así, la activación ortodrómica desde el aparato vestibular homolateral se obtuvo tanto en neuronas del tronco del encéfalo con señal de velocidad de la cabeza en fase con el movimiento de la cabeza, como en aquellas neuronas que presentaron una señal fuera de fase del movimiento de la cabeza. Las primeras poseen presumiblemente entradas vestibulares del canal semicircular anterior homolateral y las segundas del canal semicircular posterior homolateral. Se encontraron escasas neuronas con señal de velocidad de la cabeza en el plano horizontal durante nuestra búsqueda de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, ya que la zona de búsqueda sólo incluyó la porción más posterior y lateral de los núcleos vestibulares. Sin embargo, no fue posible adivinar la procedencia de la entrada vestibular hacia aquellas neuronas que no presentaron una clara modulación durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad y eran activadas desde el nervio vestibular homolateral. Este fue el caso de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y.

Utilizando pulsos de estimulación de 100 μ A de intensidad y 100 ms de duración en el electrodo situado en el oído interno homolateral se consiguieron activar neuronas del núcleo vestibular superior a una latencia constante, aunque varió de unas neuronas a otras entre 0,8 a 1,1 ms (no mostrado en los resultados). Estas neuronas han sido identificadas como neuronas

secundarias que reciben entradas directamente del nervio vestibular, enviando proyecciones al flóculo del cerebelo ó a los núcleos oculomotores (Chubb y Fuchs, 1982; Zang y col., 1993a, b, 1995a, b). Al contrario que las neuronas del núcleo vestibular superior, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron latencias de activación sináptica variables para una misma neurona, lo que requirió la construcción de histogramas post-estímulo para su análisis. Tras la estimulación en el octavo par craneal homolateral, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se activaron en la mayor parte de los casos a latencias superiores a 1,2 ms, con una media de activación cercana a 1,5 ms. Por otra parte, la corriente necesaria para la activación de estas neuronas fue superior a la requerida para activar las neuronas de segundo orden del núcleo vestibular superior descritas por Zang y col. (1993a, b). La latencia de activación observada en las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y fue demasiado larga en la mayor parte de los casos para tratarse de una vía monosináptica desde el nervio vestibular homolateral, y demasiado corta para tratarse de una vía polisináptica de más de dos interneuronas. Así, estos resultados sugieren que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan activación bisináptica desde el nervio vestibular homolateral, lo que las descarta como neuronas de segundo orden en el reflejo vestibulo-ocular. Mitsacos y col. (1983), registraron el potencial de acción generado en neuronas de los núcleos vestibulares tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular. Para la estimulación del VIII par craneal utilizaron una metodología idéntica a la empleada en este trabajo. Ellos utilizaron el mismo criterio para determinar neuronas activadas monosinápticamente o polisinápticamente desde el nervio vestibular (menos de 1,2 ms para la activación monosináptica y más de 1,2 ms para la activación polisináptica activadas). Adicionalmente, las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentaron latencias muy variables para la misma neurona, lo que apoya aún más la idea de una ruta polisináptica.

Sato y Kawasaki (1987), en el gato, encontraron que aproximadamente la mitad de la población de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan activación polisináptica desde el nervio vestibular homolateral. Por el contrario, en este trabajo la mayor parte de las

neuronas registradas en el grupo Y dorsal se consideraron bisinápticamente activadas desde el nervio vestibular homolateral, y sólo una pequeña proporción de neuronas presentó latencias de activación inferiores a 1,2 ms, requiriendo pulsos de estimulación similares a los utilizados para la activación de las neuronas con sólo señal de velocidad de la cabeza en el núcleo vestibular superior. No creemos que la diferencia de resultados entre estos trabajos sea debida a un colección insuficiente de datos, ya que, en ambos, el número de neuronas registradas fue abundante. Así, la diferencia en las proporciones entre este trabajo y el llevado a cabo por Sato y Kawasaki podría deberse a una diferencia interespecífica, ya que para nuestros experimentos utilizamos como modelo el mono ardilla, un pequeño primate del nuevo mundo, mientras ellos utilizaron el gato.

Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y son responsables en gran medida de la respuesta oculomotora adaptada cuando se fuerza la ganancia del reflejo vestibulo-ocular vertical a la alta o a la baja (Partsalis y col., 1995a, b). Lisberger (1984), estudiando la latencia del reflejo vestibulo-ocular en el animal normal y en el animal adaptado, observó que los cambios producidos en la respuesta oculomotora a pulsos de estimulación vestibular aparecían a latencias mayores que la de la respuesta vestibular debida al arco de tres neuronas (Lorente de Nó, 1933; Szentágothai, 1950). De acuerdo con nuestros resultados experimentales la porción dorsal del núcleo Y no pertenecería al circuito de latencia corta del reflejo (arco de tres neuronas), sino a un circuito de latencia mayor, debido a la existencia de al menos una neurona extra.

En conclusión, las latencias observadas se corresponden con la existencia de una ruta bisináptica homolateral, que conecta el aparato vestibular homolateral con las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y.

4.1.2 Conexión con el VIII par craneal contralateral

La estrategia utilizada para la estimulación del oído interno contralateral fue la misma que la empleada para la estimulación del oído interno homolateral al lugar de registro. La corriente necesaria para la activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y fue en todos los casos superior a la necesaria para la activación de las mismas desde el nervio vestibular homolateral. En ningún caso las latencias de activación fueron inferiores a 1,8 ms, encontrándose normalmente latencias de 2,5 a 3,0 ms. Asimismo, el número de neuronas activadas fue pequeño si lo comparamos con el de neuronas activadas desde el nervio homolateral. Un factor limitante para la activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y pudo ser la corriente utilizada, la cual no superó en ningún caso los 400 μA , consistiendo siempre en pulsos cuadrados de una duración de 100 μs .

Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y mostraron latencias de activación desde el nervio vestibular contralateral acorde con una ruta polisináptica. Una o posiblemente dos interneuronas podrían encontrarse entre el nervio vestibular contralateral y las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. Creemos que muchas de las neuronas que no se activaron claramente desde el nervio vestibular contralateral podrían tener una entrada indirecta procedente del nervio vestibular contralateral, pero nuestras limitaciones experimentales y de análisis nos impidió clasificar certeramente todas las neuronas estudiadas.

Los resultados obtenidos están de acuerdo con aquellos presentados por Sato y Kawasaki (1987) en el gato. Sato y Kawasaki encontraron igualmente una activación polisináptica de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación eléctrica del nervio vestibular contralateral.

Los electrodos de estimulación en el oído interno contralateral se colocaron de igual forma que aquellos del nervio homolateral. Por lo tanto, en ningún caso pudimos comprobar por la simple estimulación y registro electrofisiológico el tipo de información vestibular que alcanza a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y (en fase o fuera de fase con el movimiento de la cabeza). Adicionalmente, la existencia de una ruta homolateral complica aún más el problema.

La vía polisináptica contralateral podría provenir de una conexión directa desde las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y contralateral. Esta teoría es altamente probable conociendo que el circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical contiene un alto grado de conexiones comisurales desde el complejo vestibular contralateral (Carpenter y Cowie, 1985). Sin embargo, tras la inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y no encontramos ninguna neurona marcada en la porción dorsal del núcleo Y contralateral. Así pues, la vía vestibular contralateral a la porción dorsal del núcleo Y permanece todavía sin esclarecer.

4.2 Localización de las neuronas que proporcionan la señal de velocidad de la cabeza a la porción dorsal del núcleo Y

La inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y marcó retrógradamente neuronas en el núcleo vestibular superior homolateral. Estas neuronas se localizaron en la porción más anterior y lateral del núcleo vestibular superior, por debajo del braquium conjuntivum, y mediales al cuerpo restiforme. Como se mostró en la **figura 34** las células marcadas con biocitina en el núcleo vestibular superior se encontraron a lo largo de una extensión antero-posterior de 0,7 mm, en la mitad anterior del núcleo vestibular superior. La mayor parte de estas neuronas tuvieron somas de diámetro mediano (ver **figura 35**). Dos o tres ramas dendríticas emergen del cuerpo celular en direcciones opuestas. Estas dos ramas se dividen en dos o tres dendritas

secundarias cerca del lugar del origen. Estas dendritas secundarias se vuelven a dividir en pocas micras. Aunque no pudimos seguir la arborización dendrítica en una gran extensión, la distribución de las dendritas parece prolongarse de una manera bidireccional, ocupando los polos opuestos de la célula. Finalmente, desde una porción central de la célula emerge el axón. Mitsatos y col. (1983) identificaron neuronas oculomotoras (esto es, envían proyecciones directas a motoneuronas de los músculos extraoculares) en el núcleo vestibular superior en el gato. Estas neuronas tienen un tamaño somático mediano, pero, al contrario que las neuronas del núcleo vestibular superior descritas en este trabajo, poseen un número mayor de dendritas primarias, de 4 a 9. Asimismo, las neuronas oculomotoras descritas por Mitsatos y col. están localizadas en posiciones más centrales del núcleo vestibular superior.

Previos estudios anatómicos han distinguido dos subpoblaciones neuronales en el núcleo vestibular superior, una región central o magnocelular, principalmente compuesta por neuronas de tamaño mediano a grande y una región periférica compuesta principalmente de neuronas de tamaños pequeño o mediano. Ambas regiones muestran entradas directas del nervio vestibular.

Langer y col. (1995a) en el mono rhesus (*Macaca mulatta*), realizaron inyecciones de trazadores retrógrados (peroxidasa de rábano) a nivel del flóculo del cerebelo, mostrando que neuronas en el núcleo vestibular superior envían proyecciones al flóculo del cerebelo. Estas neuronas están principalmente localizadas en la región central del núcleo vestibular superior homolateral y contralateral al lugar de inyección. Inyecciones de marcadores anterógrados en el flóculo del cerebelo muestran que la mayor parte de las proyecciones al núcleo vestibular superior están localizadas centrales y posteriores a la población marcada retrógradamente. De manera similar, Carpenter y Cowie (1985) encontraron que la mayor parte de las neuronas del núcleo vestibular superior que reciben entradas del flóculo se localizan en la porción central del núcleo vestibular superior, mientras que las regiones más periféricas reciben principalmente proyecciones de los núcleos vestibulares contralaterales. Estos estudios histológicos fueron

confirmados posteriormente por Zang y col. (1993a, b, 1995a) en el mono ardilla, utilizando técnicas de estimulación antidrómica y ortodrómica. Zang y col. (1995a, b) encontraron que la mayor parte de las neuronas que se inhiben tras la aplicación de un tren de pulsos de estimulación en el flóculo del cerebelo homolateral están localizadas posteriormente en el núcleo vestibular superior, mientras que aquellas activadas antidrómicamente desde el flóculo del cerebelo homolateral se localizaron en la porción anterior del núcleo vestibular superior.

Estudios morfológicos y electrofisiológicos también han mostrado la existencia de una densa proyección desde el núcleo vestibular superior hacia estructuras oculomotoras, principalmente el núcleo troclear y el núcleo del motor ocular común. Carpenter y Cowie (1985) utilizando técnicas histológicas mostraron que en el núcleo vestibular superior las neuronas que envían proyecciones al flóculo y las que envían sus proyecciones al núcleo del motor ocular común están localizadas diferencialmente, estando las primeras localizadas en las zonas periféricas del núcleo vestibular superior, y las segundas en el centro del núcleo vestibular superior.

Nuestros estudios muestran la existencia de neuronas que proyectan al grupo Y en el núcleo vestibular superior. Aunque en los estudios llevados a cabo por Carpenter y Cowie se realizaron inyecciones en el grupo Y dorsal, estas inyecciones se extendieron hacia el núcleo vestibular superior, lo cual no permitió el análisis de proyecciones homolaterales desde el núcleo vestibular superior a la porción dorsal del núcleo Y. Las neuronas del núcleo vestibular superior marcadas retrógradamente tras la inyección de biocitina en la porción dorsal del núcleo Y están localizadas más lateralmente que las neuronas del núcleo vestibular superior que envían proyecciones al flóculo (Langer y col., 1985a; Zang y col., 1995a). Esto nos induce a pensar que desde un punto de vista histológico constituyen una población neuronal diferente a la población de neuronas del núcleo vestibular superior que envían proyecciones al flóculo del cerebelo.

Otro grupo de neuronas encontrado en el núcleo vestibular superior son las neuronas que reciben entradas inhibitorias del flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo. Estudios previos (Langer y col., 1985b; Zang y col. 1995a) han mostrado que estas neuronas se encuentran en la porción central y posterior del núcleo vestibular superior.

A la vista de los resultados obtenidos en nuestros experimentos, y comparándolos con resultados presentados por otros autores, concluimos que las neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y situadas en el núcleo vestibular superior constituyen una población neuronal diferente a las descritas hasta ahora, no recibiendo o enviando proyecciones directas hacia el flóculo del cerebelo. Asimismo, estas neuronas probablemente reciban entradas directas del nervio vestibular, y no formen parte del arco de tres neuronas del reflejo vestíbulo-ocular (no son neuronas oculomotoras).

4.3 Distribución de las células de Purkinje que proyectan al grupo Y dorsal

En trabajos anteriores se ha sugerido una compartimentalización de la información visual y vestibular que llega al flóculo del cerebelo en planos o direcciones preferentes de movimiento de la imagen visual, y que es enviada desde aquí a los núcleos vestibulares (Carey y col., 1981; Graf y col., 1988; Ito y col., 1977; Sato y col., 1982a, b, 1984). Esta compartimentalización de la información existe ya en niveles previos del procesamiento de la información visual y vestibular. Así, Soodax y Simpson (1988), en el conejo, encontraron que las neuronas del núcleo tegmental medial, lateral y dorsal, responden preferentemente a determinadas direcciones de movimiento de la imagen visual. Estas direcciones preferentes parecen estar conservadas en el *dorsal cap* de la oliva inferior (Fushiki y col. 1994; Graf y col., 1988; Sato y col., 1984).

Mediante técnicas histológicas, inyección de trazadores retrógrados, y de estimulación eléctrica se ha dividido el flóculo del cerebelo en tres zonas: dos encargadas del control de los movimientos oculares en el plano vertical y una encargada del control de los movimientos oculares en el plano horizontal (Sato y col., 1982, 1984). Carey y col. (1981) realizaron inyecciones de trazadores retrógrados diferencialmente en el núcleo vestibular medial y en el núcleo vestibular superior, en el mono macaco (*Macacca fuscata*) encontrando que estas tres zonas se extendían a lo largo del eje antero-posterior del animal, constituyendo tres bandas, una central que envía proyecciones al núcleo vestibular medial, y dos laterales que envían proyecciones al núcleo vestibular superior. Dadas las características de la información contenida en estos dos núcleos vestibulares estos autores denominaron a la banda central banda H, o banda encargada del control de los movimientos horizontales, y a las dos externas bandas V, o bandas encargadas del control de los movimientos verticales. Asimismo, experimentos llevados a cabo con conejos y gatos están de acuerdo con la existencia de dos zonas verticales y una zona horizontal en el flóculo del cerebelo.

Como se muestra en los resultados de nuestro experimento, la inyección de biocitina en el grupo Y dorsal marca retrógradamente células en el flóculo, paraflóculo ventral, nódulo y úvula del cerebelo homolateral. Las células de Purkinje marcadas se extendieron a todo lo largo de la extensión del flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo, ocupando preferentemente la banda más interna de estas estructuras. Así, concluimos que a la vista de nuestros resultados experimentales la banda más medial de las tres descritas por Carey y col. (1981) sería la responsable de la inhibición a las neuronas del grupo Y dorsal, ocupándose probablemente la banda más lateral de la inhibición hacia las neuronas del núcleo vestibular superior y la banda más central de la inhibición del núcleo vestibular medial.

4.4 Efecto de la estimulación eléctrica de la porción dorsal del núcleo Y en la respuesta de las células del núcleo vestibular superior homolateral

Los estudios de activación antidrómica muestran la aparición de potencial de campo antidrómico en el núcleo vestibular superior tras la estimulación eléctrica en el electrodo localizado en la porción dorsal del núcleo Y.

El núcleo vestibular superior contiene principalmente señales vestibulares procedentes de los canales semicirculares anterior y posterior, proporcionando información vestibular predominantemente de carácter vertical (Chubb y col, 1984; Highstein y col., 1987b; Zang y col., 1993a, b, 1995a, b). Cuatro tipos neuronales han sido caracterizados en el núcleo vestibular superior atendiendo a su respuesta fisiológica durante estimulación vestibular y visual. Chubb y col. (1984) clasificaron estas neuronas en neuronas con sólo información referente a la velocidad de la cabeza, neuronas con información de velocidad de la cabeza y posición ocular, neuronas con información referente a la posición y/o velocidad ocular y neuronas misceláneas.

En nuestro diseño experimental sólo se registró en la parte anterior del núcleo vestibular superior. Se encontraron neuronas con señal de posición ocular y neuronas con señal de velocidad de la cabeza. No se encontró en ninguno de los animales neuronas con señal de velocidad de los ojos en su órbita o en el espacio. Sólo aquellas neuronas que mostraron señal de velocidad de la cabeza se analizaron en este estudio.

4.5 Señales contenidas en las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y

En los dos apartados siguientes se discuten los resultados obtenidos respecto a la respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y homolateral durante movimientos oculares espontáneos y durante estimulación vestibular.

4.5.1 Respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y homolateral durante movimientos oculares espontáneos

La frecuencia espontánea de disparo de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y (aproximadamente 45 potenciales de acción por segundo) fue ligeramente inferior a la frecuencia de disparo de las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan al flóculo (66 potenciales de acción por segundo), y significativamente menor comparada con las neuronas del núcleo vestibular superior que reciben inhibición desde el flóculo homolateral (124 potenciales de acción por segundo) (Zang y col., 1993a, b, 1995a, b). Shimazu y Precht (1966) mostraron la existencia de una entrada inhibitoria desde los núcleos vestibulares contralaterales hacia las neuronas vestibulares de segundo orden en el núcleo vestibular superior. Carpenter y Cowei (1985) encontraron que la periferia del núcleo vestibular superior recibe una densa entrada inhibitoria desde los núcleos vestibulares contralaterales, mientras que el centro recibe principalmente entradas del flóculo del cerebelo y núcleo intersticial de Cajal, a través del fascículo longitudinal medial. Así, una fuerte inhibición desde el lado contralateral podría explicar el bajo nivel de descarga basal presentado por las neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y.

Mitsacos y col. (1983) identificaron antitrómicamente neuronas oculomotoras (que envían proyecciones directas a los núcleos oculomotores) en el núcleo vestibular superior. Ninguna de estas neuronas presentó inhibición comisural. También observaron que la mayoría de las neuronas no oculomotoras sí presentaron inhibición desde el complejo vestibular contralateral. Así, en base a la posición y al disparo basal presentado por las neuronas que envían proyecciones a la porción dorsal del núcleo Y pensamos que estas neuronas no forman parte de la población de neuronas oculomotoras, y recibirían inhibición desde el complejo vestibular contralateral. Adicionalmente, la estimulación en el nervio contralateral produce una activación polisináptica en neuronas del núcleo Y dorsal seguida por un periodo de inhibición. Esta inhibición observada en el grupo Y podría deberse a la entrada inhibitoria del complejo vestibular contralateral a las neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y.

Las neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y son notablemente más irregulares que las neuronas que proyectan al flóculo del cerebelo (ver **figura 43**). Esta irregularidad podría ser debida a las propiedades intrínsecas de la membrana de estas neuronas o bien a la presencia de una entrada vestibular irregular. Partsalis y col. (1995b) mostraron que la privación de la entrada inhibitoria a las células de la porción dorsal del núcleo Y tiene como consecuencia el aumento en la tasa de disparo de estas neuronas y el aumento en la irregularidad del disparo de las mismas. Así, la entrada inhibitoria cerebelosa podría compensar el carácter irregular de la entrada vestibular a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y.

Una característica común de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antitrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y fue la ausencia de modulación detectable durante movimientos oculares sin estimulación vestibular. Lisberger y col. (1994) identificaron un grupo de neuronas en el núcleo vestibular superior que reciben entradas directas desde el flóculo del cerebelo y que intervenían en el reflejo vestíbulo-ocular horizontal, todas estas neuronas mostraron sensibilidad a la velocidad y/o posición de los ojos. Igualmente, Zang y col.

(1993b) utilizando como modelo el reflejo vestibulo-ocular vertical encontraron que las neuronas que reciben entradas desde el flóculo del cerebelo en el núcleo vestibular superior presentan señal de velocidad y posición ocular. Estos resultados no son extraños conociendo que las células de Purkinje del flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo contienen información referente a parámetros oculares (Büttner y Waespe, 1984; Graf y col., 1988; Nagao, 1988; Sato y Kawasaki, 1990; Stone y Lisberger, 1990; Waespe y Henn, 1981 a, b).

A la vista de los resultados obtenidos en trabajos previos y de los resultados expuestos en este trabajo concluimos que las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y no forman parte del lazo inhibitorio a través del flóculo o paraflóculo ventral del cerebelo hacia el tronco del encéfalo.

4.5.2 Respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y durante estimulación vestibular

Durante estimulación vestibular sinusoidal, utilizando frecuencias de 0,5 a 1 Hz, las neuronas activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y mostraron una señal en fase o fuera de fase con el movimiento de la cabeza. Sólo 4 neuronas de las 21 registradas mostraron una fase cercana a 90 o 270 grados con respecto al movimiento de la cabeza. Así, pensamos que estas neuronas contienen predominantemente información procedente del canal semicircular anterior o posterior. Zang y col. (1993a) estudiaron la respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior durante estimulación vestibular vertical encontrando un mayor número de neuronas vestibulares con sensibilidad mayor para movimientos descendentes de la cabeza que para movimientos ascendentes de la cabeza. A diferencia de nuestro estudio, Zang y col.

utilizaron como criterio neuronas que fueron antidrómicamente activadas desde el flóculo del cerebelo, cosa que creemos no ocurre en la población de neuronas activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y.

La pequeña respuesta durante estimulación vestibular mostrada por las neuronas del núcleo vestibular superior (aproximadamente 0,25 potenciales de acción por segundo por grado por segundo) activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y, junto con su disparo basal, y su localización en el núcleo vestibular superior nos hace pensar que estas neuronas forman una población neuronal diferente a las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan al flóculo del cerebelo. Adicionalmente su pequeña respuesta y la diversidad mostrada en su fase ayudan a entender por qué las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan poca o ninguna modulación durante rotaciones de la cabeza en la oscuridad.

4.6 Posible papel de las neuronas del núcleo vestibular superior activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y en la adaptación del reflejo vestibulo-ocular

El flóculo del cerebelo es una estructura necesaria para que se produzca la adaptación del reflejo vestibulo-ocular. Aunque no existe un consenso respecto a la necesidad de esta estructura para la retención de estos cambios plásticos, parece ser que aquellas zonas que muestran cambios en su respuesta reciben una entrada inhibitoria del flóculo del cerebelo. Así, Partsalis y col. (1995b) mostraron que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan inhibición directa del flóculo del cerebelo homolateral. De manera similar en el reflejo vestibulo-ocular horizontal, Lisberger y col. (1994) encontraron una población de neuronas que presenta cambios en su respuesta a la estimulación vestibular en la oscuridad tras la adaptación del reflejo vestibulo-

ocular horizontal. Estas neuronas poseían una entrada directa del flóculo del cerebelo. No creemos que la respuesta de las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y cambie tras la adaptación del reflejo vestibulo-ocular a un nuevo estado de ganancia, ya que estas neuronas no parecen recibir inhibición directa del flóculo del cerebelo (discutido anteriormente).

Nuestros resultados experimentales sugieren que las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y enviarían información de tipo vestibular. Esta información no sería objeto de cambio durante la adaptación del reflejo vestibulo-ocular, y los cambios ocurrirían: i) a nivel de las entradas a la porción dorsal del núcleo Y, aumentando o disminuyendo el peso relativo de la entrada en fase con al movimiento de la cabeza o de la entrada fuera de fase con el movimiento de la cabeza, probablemente, a través de la señal inhibitoria procedente del flóculo del cerebelo; ii) en el flóculo del cerebelo y transmitidos posteriormente a la porción dorsal del núcleo Y; y iii) podría ocurrir que tanto lo primero como lo segundo sea cierto, con lo cual, los cambios ocurrirían en dos lugares diferentes. Nosotros creemos que lo más probable a la vista de los resultados experimentales presentados por otros autores sea un cambio a nivel del peso sináptico de las entradas vestibulares a la porción dorsal del núcleo Y.

Lisberger y col. (1992) llegaron a similares conclusiones para el reflejo vestibulo-ocular horizontal. En este caso, las neuronas del núcleo vestibular medial que muestran cambios en su respuesta durante estimulación vestibular en la oscuridad durante la adaptación de reflejo poseen entradas vestibulares de sentido opuesto. Así, estas neuronas son excitadas monosinápticamente desde el canal horizontal homolateral y contralateral. Un proceso de compensación de los pesos sinápticos de la entrada de cada canal horizontal podría constituir la base fisiológica del cambio plástico observado en la respuesta de estas neuronas.

4.6 Modelo del circuito neuronal implicado en el reflejo vestibulo-ocular vertical en el mono ardilla

En la **figura 45** se muestra de manera esquemática el modelo propuesto para el circuito neuronal implicado en el reflejo vestibulo-ocular vertical. Scudder y Fuchs (1992) demostraron que neuronas en el núcleo vestibular medial con información de la posición de los ojos en su órbita y con información de la velocidad de la cabeza, reciben entradas monosinápticas desde el nervio vestibular. Adicionalmente, estas neuronas son activadas antidrómicamente desde el núcleo del motor ocular común, constituyendo así parte integrante del circuito de latencia corta del reflejo vestibulo-ocular horizontal.

En el núcleo vestibular superior, Zang y col. (1993, 1995a, b) describieron, en función a su relación con el flóculo del cerebelo, dos tipos neuronales activados ortodrómicamente desde el nervio vestibular. Un grupo neuronal encontrado en la mitad caudal del núcleo vestibular superior presentaba entradas inhibitoras desde el flóculo del cerebelo homolateral, conteniendo información referente a la velocidad de los ojos en el espacio. Estas neuronas de la porción caudal del núcleo vestibular superior son activadas antidrómicamente desde el núcleo del motor ocular común, por lo que forman junto con las neuronas anteriormente descritas del núcleo vestibular medial un arco de tres neuronas entre la entrada vestibular, proveniente de los canales semicirculares, y la salida oculomotora, a través de los núcleos oculomotores.

Neuronas en la mitad anterior del núcleo vestibular superior con información referente a la velocidad de la cabeza, son activadas ortodrómicamente desde el nervio vestibular, y no muestran activación antidrómica tras la estimulación eléctrica del núcleo del motor ocular común. Estas neuronas han sido descritas como neuronas de proyección al flóculo, ya que la estimulación eléctrica a través de electrodos de estimulación implantados de manera temporal en el flóculo homolateral activan antidrómicamente a este conjunto de neuronas (Zang y col., 1995a).

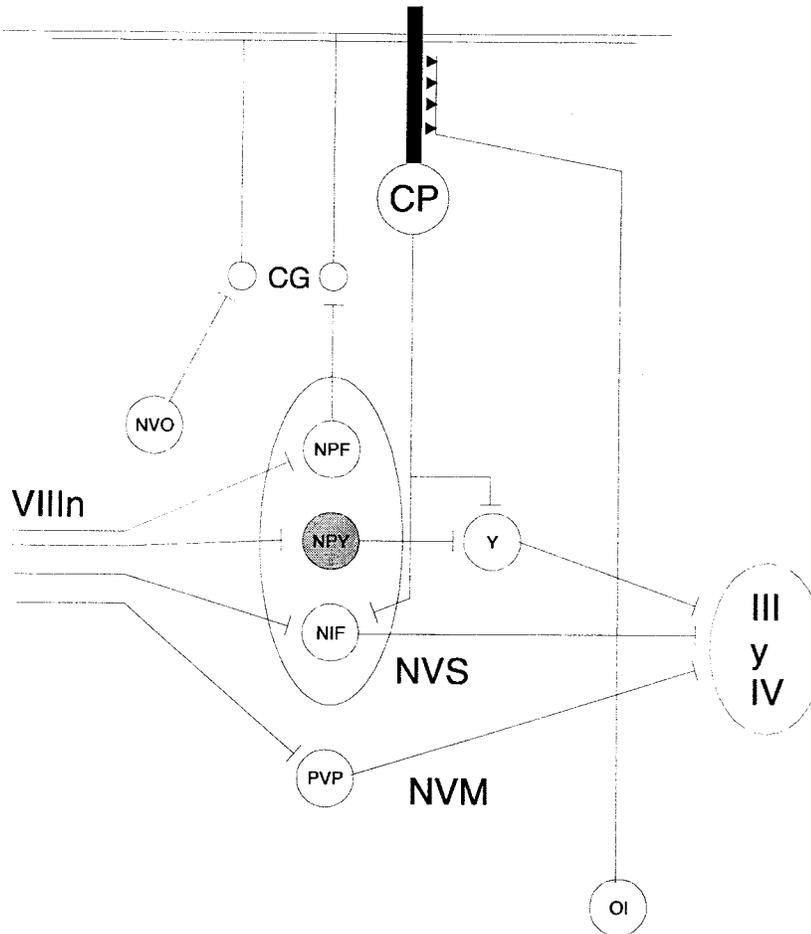


Figura 45. Diagrama esquemático mostrando la posición de las neuronas del núcleo vestibular superior que envían la señal vestibular a la porción dorsal del núcleo Y en el circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical. Abreviaturas: CG, célula de los granos; CP, célula de Purkinje; III, núcleo del motor ocular común; IV, núcleo troclear; NIF, neuronas inhibidas por el flóculo; NPF, neuronas que proyectan al flóculo; NPY, neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y; NVM, núcleo vestibular medial; NVO, neuronas con información referente a la velocidad de los ojos en su órbita; NVS, núcleo vestibular superior; OI, oliva inferior; VIII n, nervio del VIII par craneal; Y, porción dorsal del núcleo Y. Las conexiones comisurales no se muestran en la figura.

Neuronas de proyección al flóculo en el núcleo vestibular superior han sido descritas como neuronas con señal de velocidad de la cabeza, pudiendo ser ésta una señal en fase con el movimiento de la cabeza o fuera de fase. Atendiendo a la señal que presentan durante movimientos de la cabeza en el plano vertical se considera que estas neuronas recibirían entradas directamente de las aferentes vestibulares procedentes del canal semicircular anterior o posterior.

El flóculo del cerebelo recibe a través de otras rutas señales referentes a parámetros oculares, y de desplazamiento de la imagen visual en la retina (Cheron y col., 1996; Escudero y col., 1996). Estas entradas alcanzan el flóculo del cerebelo mediante fibras musgosas y trepadoras, procedentes del *dorsal cap* de la oliva inferior (Lisberger y col., 1994b). Numerosos estudios de registro extracelular han mostrado que las células de Purkinje del flóculo del cerebelo contienen una señal de velocidad de los ojos en el espacio o velocidad de los ojos en su órbita (Highstein y col., 1997; Stone y Lisberger, 1990). Ambas señales pueden ser explicadas en función de las entradas de información visual y vestibular antes descritas.

Las células de Purkinje en el flóculo del cerebelo inhiben monosinápticamente a las neuronas de la porción posterior del núcleo vestibular superior (descritas anteriormente), así como neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. El grupo neuronal descrito en este trabajo, neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y homolateral, presenta características que nos inducen a pensar que no recibe entradas inhibitorias del flóculo del cerebelo.

Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y son activadas bisinápticamente desde el nervio vestibular homolateral y polisinápticamente desde el nervio vestibular contralateral. En este trabajo hemos mostrado que neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y presentan señales de velocidad de la cabeza en fase o fuera de fase respecto al movimiento de la cabeza, y no muestran cambios en su frecuencia de disparo en

relación a los movimientos oculares. Como se ha explicado anteriormente estas neuronas no muestran las características típicas de las neuronas inhibidas monosinápticamente desde el flóculo, ni de las neuronas que envían proyecciones al flóculo del cerebelo. Consideramos que estas neuronas constituyen un grupo diferente de neuronas en el núcleo vestibular superior, que poseen entradas directas vestibulares y que conectan monosinápticamente con la porción dorsal del núcleo Y.

Las neuronas del núcleo vestibular superior que envían proyecciones a la porción dorsal del núcleo Y presentan sensibilidad a los movimientos de la cabeza. Tomlinson y Robinson (1984), en el mono rhesus, estudiaron la respuesta de neuronas de los núcleos vestibulares y su conexión con el núcleo del motor ocular común, encontrando que todos los tipos neuronales en el reflejo vestibulo-ocular vertical envían algún tipo de proyección hacia el núcleo del motor ocular común, excepto aquéllas que contienen únicamente información referente a la velocidad de la cabeza. Zang y col. (1993a) mostraron que las neuronas en el núcleo vestibular superior que contienen únicamente información de la velocidad de la cabeza no proyectan al núcleo del motor ocular común. A la vista de los resultados obtenidos en trabajos previos, consideramos que las neuronas del núcleo vestibular superior que envían proyecciones a la porción dorsal del núcleo Y no envían proyecciones al núcleo del motor ocular común. No se trataría así de neuronas premotoras.

En el circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical presentado en la **figura 45**, se conoce con seguridad que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y muestran cambios en su respuesta tras la adaptación del reflejo vestibulo-ocular. Se postula que las neuronas del núcleo vestibular superior que envían proyecciones a la porción dorsal del núcleo Y no cambian su respuesta tras la adaptación del reflejo, y no se sabe con seguridad si las células de Purkinje cambian o no su respuesta tras la adaptación del reflejo.

Una cuestión adicional sin resolver es si las neuronas del núcleo vestibular superior con señal de velocidad de los ojos en el espacio cambian o no su respuesta tras la adaptación del reflejo vestibulo-ocular. Lisberger y col. (1994a) registraron neuronas en el núcleo vestibular medial que presentaron cambios en su respuesta a la estimulación vestibular tras la adaptación del reflejo. Estas neuronas son activadas monosinápticamente desde el nervio vestibular homolateral, constituyendo así neuronas secundarias del circuito del reflejo vestibulo-ocular. En nuestro trabajo las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y, hasta ahora las únicas neuronas del reflejo vestibulo-ocular vertical donde se ha demostrado un cambio en su respuesta tras la adaptación del reflejo, poseen entradas bisinápticas del nervio vestibular. Las neuronas descritas por Lisberger y col. (1994) son neuronas que reciben entradas directas inhibitorias desde el flóculo del cerebelo homolateral y que envían proyecciones al núcleo del motor ocular común. El mismo tipo de neuronas se ha encontrado en el reflejo vestibulo-ocular vertical (Zang y col. 1993b, 1995a), hasta ahora no se sabe si estas neuronas descritas por Zang y col. podrían cambiar o no su respuesta tras la adaptación del reflejo.

4.7 Latencia de activación de neuronas de la porción dorsal del núcleo Y durante la estimulación del VIII par craneal. En el animal adaptado

Los resultados presentados en este experimento muestran que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y presentan predominantemente una activación bisináptica desde el nervio vestibular homolateral, y que tanto una señal de velocidad de la cabeza en fase con el movimiento de la misma, o fuera de fase, alcanza a estas neuronas. Esto es, información procedente de canales semicirculares anterior y posterior. Partsalis y col. (1995a) demostraron que las neuronas del grupo Y en el animal no adaptado, no presentan una sensibilidad apreciable para movimientos de la cabeza en el plano vertical, o en el caso de mostrar cierta modulación, ésta es fuera de fase con

el movimiento de la cabeza. Tras la adaptación del animal a alta ganancia, las neuronas incrementan su modulación durante movimientos de la cabeza en la oscuridad, y durante adaptación a baja ganancia incrementan su tasa de disparo para movimientos descendentes de la cabeza. Estas señales del mismo signo que las señales suministradas por los canales semicirculares anterior y posterior.

Nuestro objetivo fue esclarecer cómo se producen los cambios que se manifiestan en la respuesta de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. Si el cambio de fase experimentado por estas neuronas tras la adaptación del reflejo a baja/alta ganancia es debido a un cambio en los pesos sinápticos relativos de la entrada con información del canal semicircular posterior y de la entrada del canal semicircular anterior, la siguiente pregunta a plantear sería: ¿cómo y cuál de las dos entradas vestibulares cambian su peso sináptico?. Si la entrada que lleva información del canal anterior es la única que cambia, entonces se esperaría un aumento de la excitabilidad de la entrada sináptica a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la adaptación a alta ganancia y una disminución de la misma tras la adaptación a baja ganancia. Esta teoría sería apoyada por los resultados obtenidos por Partsalis y col. (1995a) donde se muestra un aumento en la frecuencia de disparo basal de estas neuronas tras la adaptación a alta ganancia y una disminución del mismo tras la adaptación a baja ganancia. Otra posibilidad sería que únicamente la entrada de información del canal posterior sea la afectada. En este caso sería el caso opuesto al anterior. Finalmente podría ocurrir un cambio en ambas entradas sinápticas, aumentando una y disminuyendo la otra. En este último caso no se esperaría un cambio en la excitabilidad de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y tras la estimulación en el aparato vestibular, o este cambio sería mucho menor, ya que la disminución de la excitabilidad de la entrada en fase se vería correspondido con un aumento de la excitabilidad de la entrada fuera de fase.

La latencia de activación de una célula viene determinada por la longitud de la vía neuronal así como por la eficacia sináptica. Así, si la excitabilidad de la vía se ve disminuida se

esperará un aumento en la latencia de la misma. De forma contraria, si la excitabilidad de la vía aumenta la latencia aumentará.

Nuestros resultados experimentales mostraron que en la mayor parte de los casos, con la excepción del mono B, cada vez que se produjo un cambio en la ganancia del reflejo vestibulo-ocular por adaptación, se observó un aumento en la latencia de activación de las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y. Sin embargo, este aumento no fue siempre estadísticamente significativo. La respuesta se complica aún más si observamos que en la mayoría de los monos existe un aumento progresivo de la latencia de activación con el tiempo transcurrido desde el comienzo del experimento (meses). Por lo tanto no es descartable que el aumento de ganancia sea debido a un efecto lesivo de los electrodos de estimulación sobre los receptores vestibulares en el oído interno. Estos resultados de estimulación en el oído interno y registro en la porción dorsal del núcleo Y en diferentes estados de ganancia del animal no son lo suficientemente sólidos como para llegar a una conclusión justificable. Así, se requieren posteriores estudios para determinar con exactitud si la vía vestibular a la porción dorsal del núcleo Y se hace más o menos excitable con los cambios plásticos del circuito del reflejo vestibulo-ocular vertical.

5 CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos de los tres experimentos realizados en 6 monos ardilla (*Saimiri sciureus*) y la comparación de los mismos con la literatura existente nos llevan a las siguientes conclusiones.

1.- Las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y se activan bisinápticamente desde el nervio vestibular homolateral, y bi o polisinápticamente desde el nervio vestibular contralateral.

2.- Las células de Purkinje responsables de la entrada inhibitoria procedente del flóculo y paraflóculo ventral del cerebelo homolateral a la porción dorsal del núcleo Y están localizadas a lo largo de toda la extensión antero-posterior del flóculo y paraflóculo ventral, ocupando preferentemente una banda que se localiza en la zona interna del flóculo del cerebelo.

3.- La señal de velocidad de la cabeza alcanza a las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y a través de interneuronas situadas en la porción más lateral y anterior del núcleo vestibular superior.

4.- Las neuronas en el núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y contienen información de velocidad de la cabeza en el plano vertical. Esta información puede consistir en una señal en fase con el movimiento de la cabeza o bien en una señal fuera de fase del movimiento de la cabeza. Así, a través de estas interneuronas la porción dorsal del núcleo Y recibirá información de origen tanto del canal semicircular anterior como del canal semicircular posterior.

5.- Neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan la porción dorsal del núcleo Y muestran una tasa de disparo irregular con ausencia de información referente a parámetros oculares, posición o velocidad de los ojos.

6.- A pesar de que el diseño experimental no permitió identificar las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y como neuronas secundarias, de acuerdo con su localización en el núcleo vestibular superior y resultados de trabajos precedentes, consideramos que las neuronas de la porción dorsal del núcleo Y reciben entradas directas del nervio vestibular homolateral.

7.- De acuerdo con las características de disparo de las neuronas activadas antidrómicamente desde la porción dorsal del núcleo Y, irregular y con un disparo basal de 39,5 potenciales de acción por segundo, y con la localización del mismo, consideramos que estas neuronas constituyen una población neuronal diferente a las hasta ahora descritas en el núcleo vestibular superior. Así, estas neuronas no recibirían entradas inhibitorias del flóculo o paraflóculo ventral del cerebelo, y no enviarían colaterales al flóculo o paraflóculo ventral del cerebelo ni a los núcleos oculomotores.

8.- En base a la ausencia de respuesta durante movimientos oculares creemos que las neuronas del núcleo vestibular superior que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y no mostrarían cambios en su respuesta tras la adaptación del reflejo vestibulo-ocular a alta o baja ganancia. Nuestra hipótesis supone que los cambios observados en la porción dorsal del núcleo Y tras la adaptación del reflejo se producirán a nivel de la porción dorsal del núcleo Y, y no como consecuencia de cambios producidos en la información contenida en las interneuronas que mandan la señal vestibular a la porción dorsal del núcleo Y. Este cambio se produciría mediante la compensación de las entradas vestibulares procedentes de las interneuronas descritas en este trabajo (señal en fase o fuera de fase del movimiento de la cabeza). Otra posibilidad sería que los

cambios observados en la porción dorsal del núcleo Y sean una consecuencia de cambios producidos a nivel del cerebelo, los cuales se transmitirían a la porción dorsal del núcleo Y.

9.- De acuerdo, pues, con los resultados obtenidos, se puede proponer que las neuronas que proyectan a la porción dorsal del núcleo Y contienen las señales vestibulares apropiadas para explicar los cambios funcionales que ocurren en las neuronas de dicho núcleo Y, tras la adaptación del reflejo vestíbulo-ocular en el plano vertical.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Abend, W.K.** (1977). Functional organization of the superior vestibular nucleus of the vestibular nucleus of the squirrel monkey. *Brain Res.*, 132: 65-84.
- Baker, R., Mano, N. y Shimazu, H.** (1969). Postsynaptic potentials in abducens motoneurons induced by vestibular stimulation. *Brain Res.*, 15: 577-580.
- Baker, R y Spencer, R.F.** (1981). Synthesis of horizontal conjugate eye movement signals in the abducens nucleus. *Jpn. J. EEG EMG* 31:49-59.
- Balaban, C.D., Ito, M. y Watanabe, E.** (1981). Demonstration of Zonal Projections from the Cerebellar Flocculus to Vestibular Nuclei in Monkeys (*Maccaca Fuscata*). *Neurosc. Letters*, 27: 101-105.
- Bello, S., Paige, G.D. y Highstein, S.M.** (1991). The squirrel monkey vestibulo-ocular reflex and adaptive plasticity in yaw, pitch, and roll. *Exp. Brain Res.*, 87: 57-66.
- Bender, M.B. y Shanzer, S.** (1964). Oculomotor Pathways defined by electric stimulation and lesions in the brain Stem of the monkey. En B. Bender (Eds). *The Oculomotor System*. Harper y Row, Nueva York., 81-140.
- Blázquez, P.M., Gruárt, A. y Delgado-García, J.M.** (1994). Discharge patterns of cerebellar nuclear neurons related to eye and head movements in the alert cat. En Delgado-García, J.M., Godaux, E. y Vidal, P.-P. (Eds). *Information processing underlying gaze control*. Pergamon, 37: 373-382.
- Blázquez, P.M., Partsalis, A. y Highstein, S.H.** (1995). Vestibular inputs to the dorsal Y group nucleus in the squirrel monkey. *Soc. Neurosc.*, 1994.
- Büttner, U. y Büttner-Ennever, J.A.** (1988). Present concepts of oculomotor organization. En Büttner-Ennever J.A (Eds). *Neuroanatomy of the oculomotor system*. Elsevier, Munich.
- Büttner, U. y Waespe, W.** (1984). Purkinje cell activity in the primate flocculus during optokinetic stimulation, smooth pursuit eye movements and VOR-suppression. *Exp. Brain Res.*, 55: 97-104.
- Brodal, P.** (1979). The pontocerebellar projection in the monkey: an experimental study with retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Neurosc.*, 4: 193-208.

- Brodal, P. y Pompeiano, O.** (1957). The vestibular nuclei in the cat. *J. Anat.* 91: 438-454.
- Carlenton, S.C. y Carpenter, M.B.** (1984). Distribution of primary vestibular fibers in the brainstem and cerebellum of the monkey. *Brain Res.*, 336: 265-287.
- Carpenter, M.B.** (1971). Central oculomotor pathways. En Bach y Rita, P., Colins, C.C. y Hyde, J.E. (Eds). *The control of eyes movements.* Academic Press, Nueva York, 67-103.
- Carpenter, M.B. y Cowie, R.J.** (1985). Connections and oculomotor projections of the superior vestibular nucleus and cell group Y. *Brain Res.*, 336: 265-287.
- Carpenter, M.B., McMasters, R.E. y Hanna, C.R.** (1963). Disturbances of conjugated horizontal eyes movements in the monkey. I. Physiological effect and anatomical degeneration resulting from lesion of the abducens nucleus and nerve. *Arch. Neurol.*, 8: 231-247.
- Carpenter, M.B., Huang, Y., Pereira, A.B., y Hersh, L.B.** (1990). Immunocytochemical features of the vestibular nuclei in the monkey and cat. *J. Hirnforschung*, 31:585-599.
- Cheron, G., Escudero, M. y Godaux, E.** (1996). Discharge properties of brain stem neurons projecting to the flocculus in the alert cat. I. Medial vestibular nucleus. *J. Neurophysiol.*, 76: 1759-1774.
- Chez, C. y Stanley, F.** (1985). The cerebellum. En Kandel, E. y Schwartz, J. (Eds). *Principles of Neural Science* (segunda edición), 39: 502-522.
- Chubb, M.C. y Fuchs, A.** (1982). Contribution of y group of vestibular nuclei and dentate nucleus of cerebellum to generation of vertical smooth eye movements. *J. Neurophysiol.*, 48: 75-99.
- Chubb, M.C., Fuchs, A.F. y Scudder, C.A.** (1984). Neuron activity in monkey vestibular nuclei during vertical vestibular stimulation and eye movements. *J. Neurophysiol.*, 52: 724-742.
- Cheron, G., Escudero, M. y Godaux, E.** (1996). Discharge properties of the brain stem neurons projecting to the flocculus in the alert cat. I. Medial vestibulo-ocular nucleus neurons. *J. Neurophysiol.* 76: 1759-1774.

- Cohen, B., Komatsuzaki, A. y Bender, M.B.** (1968). Electro-oculographic syndrome in monkeys after pontine reticular formation lesions. *Arch. Neurol.*, 18: 78-92.
- Delgado-García, J.M., del Pozo, F. y Baker, R.** (1986). Behavior of neurons in the abducens nucleus of the alert cat- I. Motoneurons. *Neuroscience*
- Escudero, M., Cheron, G., y Godaux, E.** (1996). Discharge properties of the brain stem neurons projecting to the flocculus in the alert cat. II. Prepositus hypoglossal nucleus. *J. Neurophysiol.*, 76: 1775-1785.
- Escudero, M., De la Cruz, R.R., y Delgado-García, J.M.** (1992). A physiological study of vestibular and prepositus hypoglossi neurons projecting to the abducens nucleus in the alert cat. *J. Physiol.*, 458: 539-560.
- Escudero, M. y Delgado-García, J.M.** (1988). Behavior of reticular, vestibular and prepositus neurons terminating in the abducens nucleus of the alert cat. *Exp. Brain Res.*, 71: 218-222.
- Evinger, C.** (1988). Extraocular motor nuclei: localization, morphology and afferents. En Büttner-Ennever (Eds). *Neuroanatomy of the oculomotor system*. Elsevier, 3: 81-117.
- Fuchs, A.F. y Robinson D.A.** (1966). A method for measuring horizontal and vertical eye movement chronically in the monkey. *J. Appl. Physiol.*
- Fushiki, H., Sato, Y., Miura, A. y Kawasaki, T.** (1994). Climbing fiber responses of Purkinje cells to retinal image movement in cat cerebellar flocculus. *J. Neurophysiol.*, 71: 1336-1350.
- Fukushima, K. y Kanedo, C.R.S.** (1995). Vestibular integrators in the oculomotor system. *Neurosc. Res.*, 22: 249-258.
- Fukushima, K., Terashima, T., Kudo, J., Inoue, Y. y Kato, M.** (1986). Projections of the group y of the vestibular nuclei and the dentate and fastigial nuclei of the cerebellum to the interstitial nucleus of cajal. *Neurosc. Res.*, 3: 285-299.
- Fuse, G.** (1912). Die innere Abteilung des Kleinhirnstieles (Meynert I, A.K.) und der Deitersche Kern. *Arb. Hirnanat. Inst. (Zürich)*, 6:29-267

- Gacek, R.R.** (1969) The course and central termination of first order neurons supplying vestibular end organs in the cat. *Acta Oto-Laryngol. Suppl.*, 254: 1-66.
- Golberg, J.M., Highstein, S.M., Moscovakis, A.K. y Fernandez, C.**(1987). Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. I. An electrophysiological analysis.
- Gouras, P.** (1985). Oculomotor system. En Kandel, E.R. y Schwartz, J.H. (Eds). *Principles of neuronal science* (segunda edición) Elsevier, New York, 43: 571-583.
- Graf, W. y Ezure, K.** (1986). Morphology of vertical canal related second order vestibular neurons in the cat. *Exp. Brain Res.*, 63: 35-48.
- Graf, W., McCrea, R.A. y Baker, R.** (1983). Morphology of posterior canal related secondary vestibular neurons in rabbit and cat. *Exp. Brain Res.*, 52: 125-138.
- Graf, W. y Simpson, J.I.** (1981). Relations between the semicircular canals, the optic axis, and the extraocular muscles in lateral-eyed and frontal-eyed animals. En Fuchs, A.F. y Becker, W. (Eds). *Progress in oculomotor research*, Elsevier/ North Holland, Nueva York, 411-420.
- Graf, W., Simpson, J.I. y Leonard, C.S.** (1988). Spatial organization of visual messages of the rabbit cerebellar flocculus. II. Complex and simple spike responses of purkinje cells. *J. Neurophysiol.*, 60: 2091-2122.
- Grasse, K.L. y Cynader, M.S.** (1984). Electrophysiology of lateral and dorsal terminal nuclei of the cat accessory optic system. *J. Neurophysiol.*, 51: 276-293.
- Graybiel, A.M.** (1977a) Direct and indirect preoculomotor pathways of the brainstem: An autoradiographic study of the pontine reticular formation in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 165: 37-78.
- Graybiel, A.M.** (1977b) Organization of oculomotor pathways in the cat and rhesus monkey. En Baker, R. y Berthoz, A. (Eds). *Control of gaze by brainstem neurons, development in neuroscience*. Elsevier Amsterdam, 79-88.
- Graybiel, A.M. y Hartweg, E.A.** (1974). Some afferent connections of the oculomotor complex in the cat: An experimental study with tracer techniques. *Brain Res.*, 81: 543-551.

- Gruárt, A., Blázquez, P.M. y Delgado-García, J.M.** (1994). Kinematic analysis of classically-conditioned eyelid movements in the cat suggest a brain stem site for motor learning. *Neurosci. Lett.*, 175: 81-84.
- Gruárt, A., Blázquez, P.M. y Delgado-García, J.M.** (1994). Very short-term potentiation of climbing fiber effects on deep cerebellar nuclei neurons by conditioning stimulation of mossy fiber afferents. *Exp. Brain Res.*, 101: 173-177.
- Gruárt, A., Blázquez, P.M. y Delgado-García, J.M.** (1994). Variability of climbing fiber effects on deep cerebellar nuclei neurons in the alert behaving cat. En Delgado-García, J.M., Godaux, E. y Vidal, P.-P. (Eds). *Information processing underlying gaze control*. Pergamon, 38: 383-391.
- Gruárt, A., Blázquez, P.M. y Delgado-García, J.M.** (1995). Kinematics of spontaneous, reflex, and conditioned movements in the alert cat. *J. Neurophysiol.*, 74: 226-248.
- Guyton, A.C.** (1986). Motor functions of the brain stem and basal ganglia-reticular formation, vestibular apparatus, equilibrium, and brain stem reflexes. En Dreifelbis, D. W.B. (Eds). *Textbook of medical physiology*. (séptima edición). Saunders Company. 52: 619-631.
- Haddad, G.M., Demer, J.L. y Robinson, D.A.** (1980). The effect of lesions of the dorsal cap of the inferior olive on the vestibulo-ocular and optokinetic systems of the cats. *Brain Res.* 185: 265-75.
- Highstein, S.M.** (1971). Organization of the inhibitory and excitatory vestibulo-ocular reflex pathways to the third and fourth nuclei in rabbit. *Brain Res.*, 32: 218-224.
- Highstein, S.M.** (1973). The organization of the vestibulo-oculomotor and trochlear reflex pathways in the rabbit. *Exp. Brain Res.*, 17: 285-300.
- Highstein, S.M.** (1991) the central nervous system efferent control of the organs of balance and equilibrium. *Neurosc. Res.* 12: 13-30
- Highstein, S.M. y Ito, M.** (1971). Differential localization within the vestibular nuclear complex of the inhibitory and excitatory cells innervating IIIrd nucleus oculomotor neurons in the rabbit. *Brain Res.*, 29: 358-362.

- Highstein, S.M. y McCrea, R.** (1988). The anatomy of the vestibular nuclei. En Büttner-Ennever (Eds). *Neuroanatomy of the oculomotor system*. Elsevier, 5: 177-202.
- Highstein, S.M., Partsalis, A. y Arikan, R.** (1997). Role of the Y-group of the vestibular nuclei and flocculus of the cerebellum in motor learning of the vertical vestibulo-ocular reflex. En De Zeeuw, C.I., Strata, P. Y Voogd, J. (Eds) *Progress in brain research. The cerebellum: from structure to control*, 22: 383-397.
- Highstein, S.M. y Reisine** (1981). The ascending track of Deiters and horizontal gaze. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 374: 102-111.
- Hoffman, K-P y Distler, C.** (1986). The role of direction selective cells in the nucleus of the optic track of the Cat and Monkey during optokinetic nistagmus. In: E. L. Keller y D. S. Zee (Eds). *Adaptive processes in Visual and Oculomotor systems*, Pergamon Press, Oxford, 303-310.
- Holstege, G. y Colleweijn, H.** (1982). The efferent connections of the nucleus of the optic track and the superior colliculus in the rabbit. *J. Comp. Neurol.*, 209: 139-175.
- Ito, F. y Bach-y-Rita, P.** (1969). "Afferents discharges from extraocular muscle in the squirrel monkey". *Am. J. Physiology*. 217;332-335.
- Ito, M.** (1982). Cerebellar control of the vestibulo-ocular reflex - Around the flocculus hypothesis. *Ann. Rev. Neurosc.* 5: 275-96.
- Ito, M.** (1984). *The Cerebellum and Neuronal Control*. Raven Press.
- Ito, M., Jastreboff, P.J. y Miyashita, Y.** (1980). Retrograde influence of surgical and chemical flocculectomy upon dorsal cap neurons of the inferior olive. *Neurosci. Lett.* 20: 45-48.
- Ito, M., Nisimaru, N. y Yamamoto, M.** (1973a). The neural pathway mediating reflex contraction of extraocular muscles during semicircular cannal stimulations in rabbits. *Brain Res.* 55: 183-188.
- Ito, M., Nisimaru, N. y Yamamoto, M.** (1973b). The neural pathway mediating reflex inhibition from semicircular cannals to extraocular muscles of rabbits. *Brain Res.* 55: 189-193.

- Ito, M., Nisimaru, N. y Yamamoto, M.** (1976a). Pathways for vestibulo-ocular reflex excitation arising from semicircular canals of rabbit. *Exp. Brain Res.*, 24: 257-271.
- Ito, M., Nisimaru, N. y Yamamoto, M.** (1976b). Postsynaptic inhibition of oculomotor neurons involved in vestibulo-ocular reflexes arising from semicircular canals of rabbits. *Exp. Brain Res.*, 24: 273-287.
- Ito, M., Nisimaru, N. y Yamamoto, M.** (1977). Specific patterns of neuronal connections involved in the control of the rabbit's vestibulo-ocular reflexes by the cerebellar flocculus. *J. Physiol.* 265: 833-854.
- Keller, E.L. y Precht, W.** (1979). Visual-Vestibular Responses in vestibular nuclei neurons in the intact and cerebelectomised alert Cat. *Neuroscience*, 4: 1599-1613.
- Korte, G.E.** (1979). The brain stem projection of the vestibular nerve in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 184: 279-292.
- Langer, T., Fuchs A.F., Scudder, C.A. y Chubb, M.C.** (1985a). Afferents to the Flocculus of the Cerebellum in the Reshus Macaque as Revealed by Retrograde Transport of Horseradish Peroxidase. *J. Comp. Neurol.*, 235:1-25.
- Langer, T., Fuchs, A.F., Chubb, M.C., Scudder, C.A. y Lisberger, S.G.** (1985b). Floccular efferents in the reshus macaque as revealed by autoradiography and horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.*, 235:26-37.
- Linden, D.J. y Connor, J.A.** (1995). *Annu Rev. Neurosci.*, 18: 319-357.
- Lisberger, S.G.** (1984). The latency of pathways containing the site of motor learning in the monkey vestibulo-ocular reflex. *Science* 225: 74-76.
- Lisberger, S.G. y Fuchs, A.** (1978a). Role of primate flocculus during rapid behavioral modification of vestibuloocular reflex. I. Purkinje cell activity during visual guided horizontal smooth-pursuit eye movements and passive head rotation. *J. Neurophysiol.* 41: 733-763.
- Lisberger, S.G. y Fuchs, A.** (1978b). Role of primate flocculus during rapid behavioral modification of vestibuloocular reflex. II. Mossy fiber firing patterns during horizontal head rotation and eye movement. *J. Neurophysiol.* 41: 764-777.

- Lisberger, S.G. y Miles, F.A.** (1980). Role of primate medial vestibular nucleus in long-term adaptative plasticity of vestibulo-ocular reflex. *J. of Neurophysiol.* 43: 1725-1745.
- Lisberger, S.G. y Pavelko, T.A.** (1986). Vestibular signals carried by pathways subserving plasticity of the vestibulo-ocular reflex in monkeys. *J. Neurosc.* 6: 346-354.
- Lisberger, S.G., Pavelko, T.A., Bronte-Stewart, H.M. y Stone, L.S.** (1994c). Neuronal basis for motor learning in the vestibuloocular reflex of primates. II. Changes in the response of horizontal gaze velocity cells in the cerebellar flocculus and ventral paraflocculus. *J. Neurophysiol.* 72: 954-974.
- Lisberger, S.G., Pavelko, T.A. y Broussard, D.M.** (1994a). Responses during eye movements of brain stem neurons that receive monosynaptic inhibition from the flocculus and ventral paraflocculus in monkeys. *J. Neurophysiol.*, 72: 909-927.
- Lisberger, S.G., Pavelko, T.A. y Broussard, D.M.** (1994b). Neuronal basis for motor learning in the vestibuloocular reflex of primates. I. Changes in the responses of brain stem neurons. *J. Neurophysiol.* 72: 928-953.
- Lorente de Nó, R.** (1933). Vestibulo-ocular reflex arc. *Arch. Neurol. Psych.* 30: 245-291.
- Marr, D.** (1969). A Theory of Cerebellar Cortex. *J. Physiol.* 202: 437-470.
- Mays, L.E.** (1984) Neural Control of Vergence Eye Movements convergence and divergence neurons in midbrain. *J. Neurophysiol.*, 51: 1091-1108.
- Mays, L.E. y Porter, J.D.** (1984). Neural control of vergence eye movements: activity of abducens and oculomotor neurons. *J. Neurophysiol.* 52: 743-761.
- McCormick, D.A., Lavond, D.G., Clark, G.A., Kettner, R.E., Rising, C.E. y Thompson, R.F.** (1981). The engram found?. Role of the cerebellum in classical conditioning of nictitating membrane and eyelid response. *Bull Psychon. Soc.* 18: 103-105.
- McCormick, D.A. y Thompson, R.F.** (1984). Cerebellum: Essential involvement in the classically conditioned eyelid response. *Science* 223: 296-299.

- McCrea, R.A., Yoshida, K., Berthoz, A. y Baker, R.** (1980). Eye movement related activity and morphology of second order vestibular neurons terminating in the cat abducens nucleus. *Exp. Brain Res.*, 40: 468-473.
- McCrea, R.A., Yoshida, K., Evinger, C. y Berthoz, A.** (1981). The localization, axonal arborization and termination sites of eye-movement-related secondary vestibular neurons demonstrated by intra-axonal HRP injection in the alert cat. En Fuchs, A y Becker, W. (Eds). *Progress in oculomotor Research*. Amsterdam/New York: Elsevier-North Holland, 379-386.
- McCrea R.A., Strasman A. y Highstein S.M.** (1986). Morphology and physiology of abducens motoneurons and internuclear neurons intracelularly injected with horseradish peroxidase in alert squirrel monkeys. *J. Comp. Neurol.*, 243: 291-308.
- McCrea, R.A., Strasman, A. y Highstein, S.M.** (1987a). Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the horizontal vestibulo-ocular reflexes of the squirrel monkey. *J. Comp. Neurol.*, 264: 571-594.
- McCrea, R.A., Strasman, A. y Highstein, S.M.** (1987b). Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the vertical vestibulo-ocular reflexes of the squirrel monkey. *J. Comp. Neurol.*, 264: 594-.
- Miles, F.A. y Eighmy, B.B.** (1980). Long-term adaptative changes in primate vestibuloocular reflex. I. Behavioral observations. *J. Neurophysiol.*, 43: 1406-1425.
- Miles, F.A. y Fuller, J.H.** (1975). Visual tracking and the primate flocculus. *Science Wash.* 189: 1000-1002.
- Miles, F.A., Fuller, J.H., Braitman, D.J. y Dow, B.M.** (1980). Long term adaptative canges in primate-vestibuloocular reflex. III. Electrophysiological observations in flocculus of normal monkeys. *J. Neurophysiol.*, 43: 1427-1476.
- Miles, F.A., Fuller, J.H., Hassul, M., Daniels, P.D. y Kimm, J.** (1976). Effects of bilateral flocculectomy on the vestibulo-ocular reflex in the chinchilla. *Brain Res.*, 118: 339-343.
- Miles, F.A. y Lisberger, S.G.** (1981): Plasticity in the vestibulo-Ocular Reflex: A New Hypotesis. *Annu Rev. Neurosc.*, 4:273-299.

- Mirko, T.** (1993). *Manual of Middle Ear Surgery. Volume 1: Approaches, Myringoplasty, Ossiculoplasty and Tympanoplasty.* Thieme medical Publishers, Inc. New York.
- Mitsacos, A., Harvey, R. y Highstein, S.M.** (1983). The superior vestibular nucleus: an intracellular HRP study in the cat. I. Vestibulo-ocular neurons. *J. Comp. Neurol.*, 215: 78-91.
- Nagao, S.** (1988). Behavior of floccular Purkinje cells correlated with adaptation of horizontal optokinetic eye movement response in pigmented rabbits. *Exp. Brain Res.*, 73: 489-497
- Nagao, S.** (1989). Role of cerebellar flocculus in adaptive interaction between optokinetic eye movement response and vestibulo-ocular reflex in pigmented rabbits. *Exp. Brain Res.*, 77: 541-551.
- Oyster, C.W., Takahashi, E. y Collewijn, H.** (1972). Direction selective retinal ganglion cells and control of optokinetic nystagmus in the rabbit. *Vision Res.*, 12: 183-193.
- Paige, G. D.** (1983). Vestibuloocular reflex and its interactions with visual following mechanisms in the squirrel monkey. I. Response characteristics in normal animals. *J. Neurophysiol.*, 49: 134-151.
- Partsalis, A., Zang, Y. y Highstein, S.M.** (1995a). Dorsal Y group in the squirrel monkey. I. Neuronal responses during rapid and long-term modifications of the vertical VOR. *J. Neurophysiol.* 73: 615-631.
- Partsalis, A., Zang Y., y Highstein, S.M.** (1995b). Dorsal Y group in the squirrel monkey II. Neuronal responses during rapid and long-term modifications of the vertical VOR. *J. Neurophysiol.* 73: 615-631.
- Pastor, A.M., De la Cruz, R.R. y Baker, R.** (1992). Characterization and adaptive modification of the goldfish vestibuloocular reflex by sinusoidal and velocity step vestibular stimulation. *J. Neurophysiol.* 68: .
- Pompeiano, O., Mergner, T. y Corvaja, N.** (1978). Commissural, perihypoglossal and reticular afferent projections to the vestibular nuclei in the cat. *Arch. Ital. Biol.* 116:130-172.
- Poggio, G.F. y Fisher, B.** (1977). Binocular interaction and depth sensitivity in striated and prestriate cortex of behaving rhesus monkey. *J. Neurophysiol.*, 40: 1392-1405.

- Precht, W., Cazin, L., Blanks, R. y Lannou, J.** (1982). Anatomy and physiology of the optokinetic pathways to the vestibular nuclei in the rat. En Roucoux, A. y Crommelinck, M. (Eds). *Physiological and pathological aspect of eyes movements*. W. Junk. La Haya, 153-172.
- Ramón y Cajal, S.** (1904). *Histología del sistema nervioso*. Tomo II.
- Robinson, D.A.** (1976). Adaptive gain control of vestibuloocular reflex by the cerebellum. *J. Neurophysiol.*, 39: 954-969.
- Ron, S., y Robinson, D.A.** (1973). Eye movements evoked by cerebellar stimulation in the alert cat. *J. Neurophysiol.*, 36: 1004-1022.
- Sato, Y. y Kawasaki, T.** (1987). Target neurons of floccular caudal zone inhibition in Y-group nucleus of vestibular nuclear complex. *J. of Neurophysiol.* 54: 460-480.
- Sato, Y. y Kawasaki, T.** (1990). Operational unit for plane-specific control of eye movements by cerebellar flocculus in cat. *J. of Neurophysiol.*, 64: 551-564.
- Sato, Y., Kawasaki, T. y Ikarashi, K.** (1982). Zonal organization of purkinje cells projecting to the group Y of the vestibular nuclear complex and the lateral cerebellar nucleus in cats. *Brain Res.*, 234: 430-434.
- Sato, Y., Miura, A., Fushiki, H. y Kawasaki, T.** (1992). Short-term modulation of cerebellar Purkinje cell activity after spontaneous climbing fiber input. *J. Neurophysiol.*, 68: 2051-2062.
- Sato, Y., Yamamoto, F., Shojaku, H. y Kawasaki, T.** (1984). Neuronal pathway from floccular caudal zone contributing to vertical eye movements in cats- role of group Y nucleus of vestibular nuclei. *Brain Res.*, 249: 375-380.
- Sato, Y., Yamamoto, F., Shojaku, H. y Kawasaki, T.** (1983). Afferent projections from the brainstem to the three floccular zones in cats. I. Climbing fiber projections. *Brain Res.*, 272: 27-36.
- Scalia, F.** (1972). The termination of retinal axons in the pretectal region of mammals. *J. Comp. Neurol.*, 145: 223-258.

- Scudder, C.A. y Fuchs, A.F.** (1992). Physiological and behavioral identification of vestibular nucleus neurons mediating the horizontal vestibuloocular reflex in trained rhesus monkeys. *J. Neurophysiol.* 68: 244-264.
- Shimazu, H. y Precht, W.** (1966). Inhibition of central vestibular neurons from the contralateral labyrinth and its mediating pathway. *J. Neurophysiol.*, 29: 467-492.
- Simpson, J.I.** (1984). The accessory optic system. *Annu. Rev. Neurosci.*, 7: 13-41.
- Simpson, J.I. y Graf, W.** (1985). The selection of reference frames by nature and its investigators. En Berthoz A. y Melvill, J. G. (Eds). *Reviews of oculomotor research. Adaptive mechanisms in gaze control.* Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 3-16.
- Soodak, R.E. y Simpson, J.I.** (1988). The accessory Optic System of the Rabbit. 1. Basic Visual Response Properties. *J. Neurophysiol.*, 60: 2037-2054.
- Steiger, H.J. y Büttner-Ennever, J.A.** (1979). Oculomotor nucleus afferents in the monkey demonstrated with horseradish peroxidase. *Brain Res.*, 160: 1-15.
- Stone, L.S. y Lisberger, S.G.** (1990a) Visual Response of Purkinje Cells in the Cerebellar Flocculus During Smooth-Pursuit Eye Movements in Monkeys I. Simple Spikes. *Journal of Neurophysiology.* 63: 1241-1261.
- Stone, L.S. y Lisberger, S.G.** (1990b). Visual response of purkinje cells in the cerebellar flocculus during smooth-pursuit eye movements in monkeys II. Complex spikes. *J. Neurophysiol.*, 63: 1262-1275.
- Szentágothai, J.** (1950). The elementary vestibulo-ocular reflex arc. *J. Neurophysiol.* 13: 395-407.
- Tomlinson, R.D. y Robinson, D.A.** (1984). Signals in vestibular nucleus mediating vertical eye movements in the monkey. *J. Neurophysiol.*, 51: 1121-113.
- Uchino, Y., Hirai, N., Suzuki, S. y Watanabe, S.** (1980a). Axonal branching in the trochlear and oculomotor nuclei of single vestibular neurons activated from the posterior semicircular canal nerve in the cat. *Neurosc. Lett.*, 18: 283-288

- Uchino, Y., Hirai, N. y Suzuki, S.** (1982) Branching pattern and properties of vertical- and horizontal-related excitatory vestibuloocular neurons in the cat. *J. Neurophysiol.*, 48: 891-903.
- Uchino, Y., Hirai, N. y Watanabe, S.** (1978). Vestibulo-ocular reflex from the posterior canal nerve to extraocular motoneurons in the cat. *Exp. Brain Res.* 32: 337-388.
- Uchino, Y., Suzuki, S. y Watanabe, S.** (1980b). Vertical semicircular canal inputs to cat extraocular motoneurons. *Exp. Brain Res.*, 41: 45-53.
- Waespe, W., Cohen, B. y Raphan, T.** (1983). Role of the flocculus and paraflocculus in optokinetic nystagmus and visual-vestibular interactions: effects of lesions. *Exp. Brain Res.*, 50: 9-33.
- Waespe, W. y Henn, V.** (1977). Neuronal activity in the vestibular nuclei of the alert monkey during the vestibular and optokinetic stimulation. *Exp. Brain Res.*, 27: 523-538.
- Waespe, W. y Henn, V.** (1981a). Visual-vestibular interaction in the flocculus of the alert monkey. II Purkinje cell activity. *Exp. Brain Res.*, 43:349-360.
- Waespe, W. y Henn, V.** (1981b). Visual-vestibular interaction in the flocculus of the alert monkey. I Input activity. *Exp. Brain Res.*, 43:337-348.
- Yamamoto, F., Sato, Y. y Kawasaki, T.** (1986). The neuronal pathway from the flocculus to the oculomotor nucleus: an electrophysiological study of group y nucleus in cats. *Brain Research*, 371: 350-354.
- Yeo, C.H. y Hardiman, M.J.** (1992). Cerebellar cortex and eyeblink conditioning: areexamination. *Exp. Brain Res.*, 88: 623-638.
- Zang, Y., Partsalis, A. y Highstein, S.M.** (1993a). Properties of superior vestibular nucleus neurons projecting to the cerebellar flocculus in the squirrel monkey. *J. Neurophysiol.* 69: 642-645.
- Zang, Y., Partsalis, A. y Highstein, S.M.** (1993b). Response properties of superior vestibular nucleus flocculus target neurons in the squirrel monkey. *Soc. Neurosci. Abstr.* 19: 138.

- Zang, Y., Partsalis, A. y Highstein, S.M.** (1995a). Properties of Superior Vestibular nucleus flocculus Projecting Neurons in the Squirrel Monkey. I General Properties in Comparison with Flocculus Projecting Neurons. *Journal of Neurophysiology*. 73: 2261-2278.
- Zang, Y., Partsalis, A. y Highstein, S.M.** (1995b). Properties of Superior Vestibular nucleus flocculus Projecting Neurons in the Squirrel Monkey. II. *Journal of Neurophysiology*. 73: 2261-2278.
- Zee, D.S., Yamazaki, A., Butler, P.H. y Gucer, G.** (1981). Effects of ablation of flocculus and paraflocculus on eye movements in primate. *J. Neurophysiol.* 46: 878-899.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunión de la Comisión de Organización de los Estudios firmantes
en el día de la fecha, a las ... horas, en el aula de ...

D. Pablo Miquel Blázquez Gámez
tema Organización de las entradas vestibulares al
grupo y dorsal de los núcleos vestibulares

acordó organizarse la ...
unanimidad. apta cum laude por

Sevilla, 12 de junio de 1998

El Vocal,
Antonio Tamarit
El Presidente

[Signature]

El Vocal,
Juan ...
El Secretario,

[Signature]

El Vocal,
[Signature]
El Decorado,

[Signature]



501065210

FBI E TD / 391

1065210