

Estudio de la actividad funcional de las motoneuronas laríngeas en el gato anestesiado

J. M. Delgado-García, J. López-Barneo, R. Rial * y S. González-Barón

Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Sevilla

(Recibido el 5 de noviembre de 1981)

J. M. DELGADO-GARCIA, J. LOPEZ-BARNEO, R. RIAL and S. GONZALEZ-BARON. *Functional Activities of Laryngeal Motoneurons in the Anesthetized Cat*. Rev. esp. Fisiol., 38, 375-382. 1982.

The spontaneous activity of laryngeal motoneurons has been recorded in anesthetized cats. Laryngeal motoneurons were antidromically identified by their activation from the recurrent nerve. From the total number of recorded neurons, 80 % showed an activity correlated with the inspiratory phase and 20 % with the expiratory phase of the respiratory cycle. Within the limits of the antidromic field potential induced by the electrical stimulation of the recurrent nerve, the activity of inspiratory neurons not antidromically activated from the vagus or recurrent nerve, was also recorded. In the same area several efferent neurons activated from the vagus nerve, which showed spontaneous activities unrelated to the respiratory cycle were also recorded.

En la actualidad está bien establecido que las motoneuronas que inervan la musculatura intrínseca de la laringe se localizan en el núcleo ambiguo, en su porción inmediatamente rostral al obex (7, 10, 12). Desde un punto de vista fisiológico, la información existente acerca de la actividad funcional de estas motoneuronas laríngeas en relación con el ciclo respiratorio es más bien escasa (4, 14, 15). Dado que cada músculo intrínseco de la laringe presenta una actividad específica a lo largo del ciclo respiratorio (5), es de

esperar que las motoneuronas que los inervan también tengan características funcionales que las diferencien entre sí, aparte de las puramente morfológicas y de localización dentro del núcleo ambiguo. Con el presente trabajo se pretende iniciar una serie de estudios acerca de la actividad funcional de las motoneuronas laríngeas identificadas por su activación antidrómica desde el nervio recurrente y/o desde el nervio laríngeo superior (5, 9, 10, 12).

Material y métodos

* Dirección actual: Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Biología. Universidad de Palma de Mallorca.

Los experimentos se realizaron en 11 gatos adultos con pesos comprendidos entre 2 y 3,5 kg. Los animales se aneste-

siaron con pentobarbital sódico (35 mg/kg). Una vez anestesiados se les practicó una traqueotomía y se les implantaron electrodos de estimulación en los nervios vago, recurrente y laríngeo superior del lado derecho. Seguidamente se colocaron en un aparato estereotáxico, realizándose una craniectomía de fosa posterior con el fin de permitir la implantación de los electrodos de registro. A lo largo de la experimentación se controló la respiración, ritmo cardíaco y temperatura rectal de los animales. Siempre que fue posible los animales se mantuvieron con respiración espontánea, conectándose un respirador artificial cuando fue necesario.

Los registros se realizaron con micropipetas de cristal, siguiendo una técnica ya descrita (16). La actividad de las neuronas identificadas como motoneuronas laríngeas se grabó en una cinta magnética de cuatro canales o se fotografió directamente de la pantalla del osciloscopio.

Una vez concluidos los experimentos se procedió al marcaje de las zonas de registro (16). La perfusión de los animales y el tratamiento del tronco del encéfalo se realizaron con técnicas descritas en otro lugar (12, 13).

Resultados

Los criterios que se siguieron para aceptar una activación neuronal por estimulación de los nervios vago, recurrente y laríngeo superior como antidrómica fueron: que la latencia de activación variase menos de 0,1 ms durante la misma fase respiratoria (3, 5), y que la activación se mantuviese incluso con frecuencias de hasta 100 pulsos por s (fig. 1). Para aceptar que un registro correspondía a un soma neuronal fue necesario que presentase la característica espiga trifásica positiva-negativa-positiva, y que la estimulación a alta frecuencia, o la aplicación de

pulsos dobles con intervalos próximos al período refractario del soma neuronal, produjesen la aparición de una inflexión en el espacio IS-SD (3, 5, 8).

Todas las motoneuronas activadas por la estimulación del nervio recurrente se localizaron en una zona comprendida entre 0 y 2,7 mm anterior al obex, de 3 a 3,7 mm lateral a la línea media y de 3,5 a 4,5 mm de la superficie del bulbo. Dichos límites coinciden con los descritos para las motoneuronas laríngeas con técnicas morfológicas (5, 9, 10, 12) y electrofisiológicas (4, 5, 9, 14, 16). La estimulación del nervio laríngeo superior no produjo la activación antidrómica de ninguna neurona en los límites descritos.

La actividad espontánea de las motoneuronas laríngeas en relación con la respiración fue de tipo inspiratorio o espiratorio. No se puede precisar una localización preferente para motoneuronas inspiratorias y espiratorias dentro del área del núcleo ambiguo (fig. 2). En algunos casos se registraron motoneuronas inspiratorias y espiratorias a menos de 300 μ de distancia, e incluso de forma simultánea, cuando se emplearon electrodos de baja impedancia (fig. 3 B). Se registró un total de 33 neuronas activadas por estimulación de los nervios recurrente y vago. De ellas, 22 mostraron una actividad inspiratoria, 6 una actividad espiratoria y 5 una actividad no claramente relacionada con la respiración.

Las motoneuronas laríngeas inspiratorias presentaron cierta variabilidad en relación tanto con el inicio como con el final de la inspiración. Unas presentaron actividad continuada a lo largo de la inspiración (figs. 1 C y 3 A), mientras que otras sólo se activaron en la fase final de ésta (fig. 1 D). La frecuencia de disparo de estas motoneuronas osciló entre 10-100 potenciales de acción por s, dependiendo de la profundidad de la anestesia y de las condiciones fisiológicas del animal de experimentación.

La actividad de las motoneuronas es-

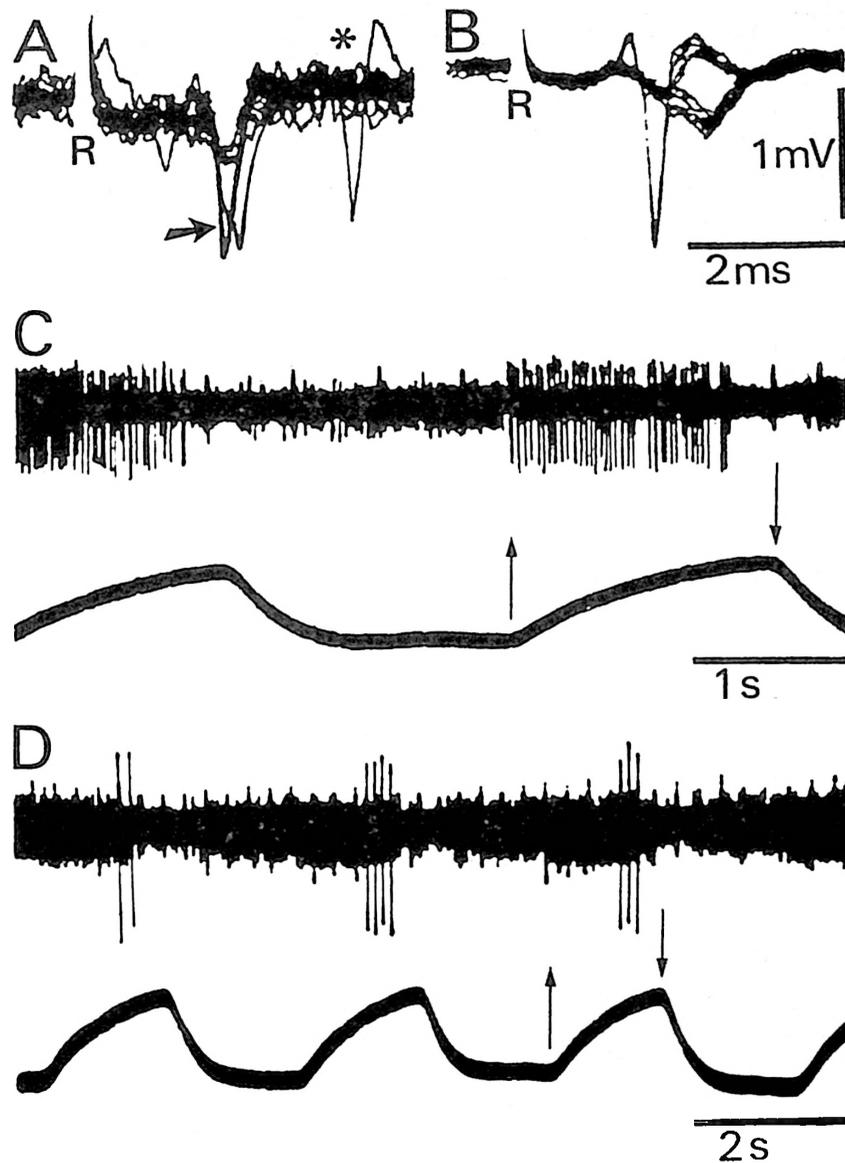


Fig. 1. Actividad espontánea de dos motoneuronas laríngicas durante el ciclo respiratorio. *A)* Activación antidrómica de una motoneurona laríngica. El asterisco señala un potencial de acción espontáneo. R: artefacto del estímulo aplicado en el nervio recurrente. La flecha señala la inflexión del espacio IS-SD, indicando que el registro corresponde a un soma neuronal. *B)* Activación antidrómica de otra motoneurona laríngica. Nótese que su latencia de activación es ligeramente más corta que la de la motoneurona mostrada en *A)*. Calibración para *A)* y *B)* como se indica. *C)* Actividad espontánea de la motoneurona cuya activación antidrómica se muestra en *A)*. La deflexión hacia arriba del registro inferior indica la inspiración. Las flechas señalan el inicio y el final de la respiración, respectivamente. *D)* Actividad espontánea de la motoneurona cuya activación antidrómica se muestra en *B)*. Nótese que esta motoneurona sólo produce un breve brote de actividad al final de la inspiración.

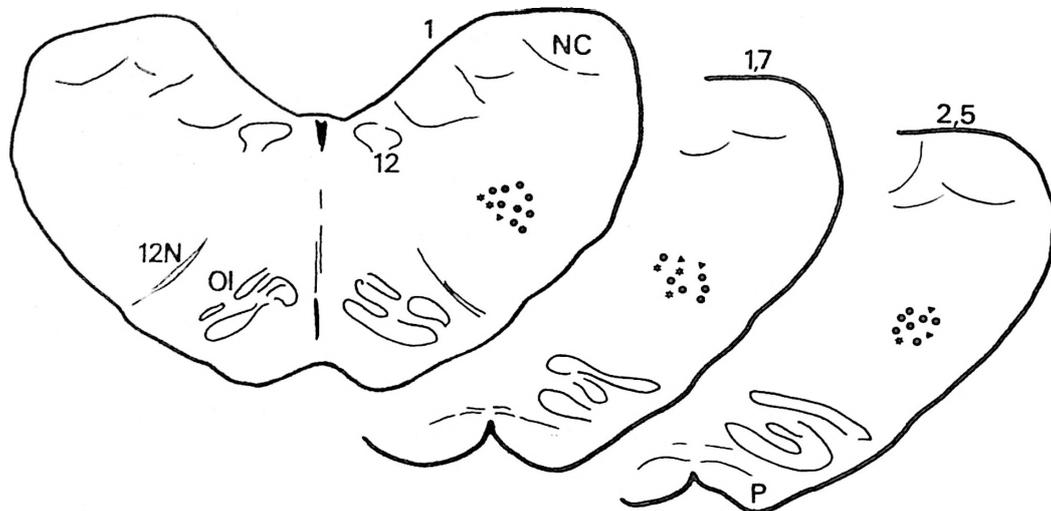


Fig. 2. Diagrama en el que se muestra la localización de las motoneuronas laringeas registradas en el núcleo ambiguo.

Localización de las motoneuronas inspiratorias (●); localización de las motoneuronas espiratorias (*), y localización de las neuronas eferentes activadas desde el nervio vago, pero no desde el recurrente (▲).

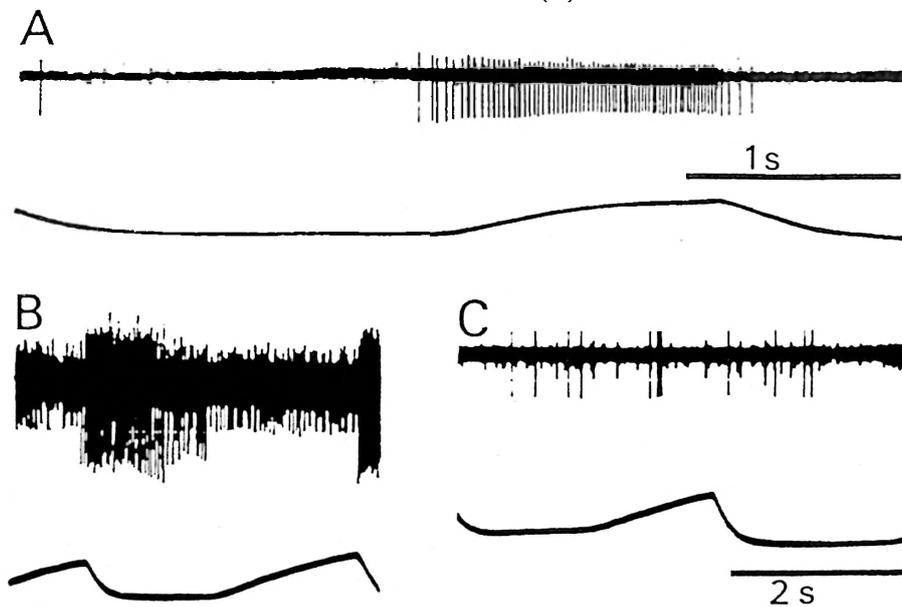


Fig. 3. Actividad espontánea de dos motoneuronas laringeas (A y B) y de una neurona eferente (C) localizadas en el núcleo ambiguo.

A) Motoneurona laringea de tipo inspiratorio. B) Registro multiunitario mostrando una motoneurona laringea espiratoria (espiga grande), así como otra de tipo inspiratorio (espiga pequeña). Ambas motoneuronas se identificaron mediante su activación antidrómica desde el nervio recurrente. C) Actividad espontánea de una neurona eferente localizada en el núcleo ambiguo y activada antidrógicamente desde el nervio vago. Dicha neurona presenta una actividad no relacionada con la respiración.

piratorias se inició en todos los casos al final de la inspiración, prolongando su actividad a todo lo largo de la fase espiratoria, durante la primera mitad, o al final de la espiración. La frecuencia de disparo de estas motoneuronas fue similar al de las neuronas (fig. 3 B).

En los límites anatómicos del potencial de campo inducido por la estimulación del nervio recurrente homolateral se registró también la actividad de neuronas eferentes no relacionadas con la respiración (fig. 3 C). Dichas neuronas se activaron antidrómicamente por estimulación del nervio vago, pero no por la estimulación del nervio recurrente, indicando que sus axones proyectan a estructuras distintas de la musculatura intrínseca de la laringe.

Dentro de los límites del potencial de campo inducido por estimulación del nervio recurrente se registró también la actividad de neuronas no activables por estimulación de los nervios vago, recurrente o laríngeo superior y que mostraron una clara actividad de tipo inspiratorio. Dichos registros se comprobaron como correspondientes a somas neuronales y no a axones de paso (DELGADO-GARCÍA *et al.*, en preparación).

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos, las motoneuronas que inervan los músculos laríngeos intrínsecos se localizan en la región del núcleo ambiguo situada inmediatamente por delante del obex. En esta zona coexisten motoneuronas inspiratorias con otras de tipo espiratorio. De acuerdo con la información disponible, las primeras inervan el músculo cricoaritenóideo posterior, mientras las segundas inervan los músculos abductores de la laringe (5, 11, 17, 18). Las motoneuronas del músculo cricotiroido parece que se localizan en una región más anterior (ver más adelante).

Dado el número relativamente pequeño de motoneuronas registradas e identificadas como tales por su activación antidrómica, no ha sido posible determinar ninguna distribución específica para las motoneuronas inspiratorias y espiratorias. La relación existente entre el total de neuronas inspiratorias (80 %) y espiratorias (20 %) registradas en los presentes experimentos no puede utilizarse como índice para establecer la frecuencia relativa de ambas poblaciones neuronales, ya que las motoneuronas espiratorias están más dispersas en la periferia del núcleo ambiguo que las motoneuronas inspiratorias (7), mientras que estas últimas se agrupan en la porción central del núcleo, por lo que son más fáciles de localizar, registrar e identificar. De hecho, las cuantificaciones realizadas con técnicas morfológicas indican un mayor número de motoneuronas espiratorias que inspiratorias (7).

Es interesante el hecho de que en la misma zona y entremezcladas con las motoneuronas laríngeas existen otras neuronas eferentes activadas antidrómicamente por estimulación del nervio vago, las cuales no presentan en apariencia ninguna actividad relacionada con la función respiratoria. Probablemente, un análisis cuantitativo más afinado que la simple observación visual de una correlación entre frecuencia de disparo y ritmo respiratorio podría poner de manifiesto la presencia en estas neuronas eferentes de información de tipo respiratorio, la cual se enviaría a otras estructuras no estrictamente respiratorias (5, 10).

La actividad inspiratoria registrada en el núcleo ambiguo puede adscribirse casi con certeza a motoneuronas que inervan el músculo cricoaritenóideo posterior, ya que es el único músculo intrínseco de la laringe de carácter inspiratorio (abductor) que envía sus axones por el nervio recurrente. En los presentes experimentos no se han encontrado neuronas activables antidrómicamente por estimulación del nervio laríngeo superior. Tales resul-

tados indican, por una parte, que la actividad inspiratoria registrada en el núcleo ambiguo en neuronas activadas antidrómicamente desde el nervio recurrente corresponde a la de motoneuronas del músculo cricoaritenideo posterior y, por otra, que las motoneuronas del músculo cricotiroideo probablemente se localizan en una región distinta de la estimulada en los presentes experimentos. Conclusiones similares se han obtenido del estudio de los potenciales de campo inducidos en esta región del núcleo ambiguo por estimulación de los nervios recurrente y laríngeo superior (16).

Como es sabido, en la región lateral al núcleo ambiguo existe un nutrido grupo de interneuronas inspiratorias que envían sus axones de modo preferente hacia la médula contralateral, donde hacen sinapsis con motoneuronas espinales inspiratorias (5, 9, 10, 14). Es evidente que las motoneuronas que inervan el músculo cricoaritenideo posterior, cuya función abductora es bien conocida (5), deben recibir una información similar a la de dichas interneuronas, para así sincronizar los movimientos inspiratorios del diafragma y de la musculatura intercostal con los de la laringe. GACEK (7) ha adelantado la hipótesis de que las motoneuronas del músculo cricoaritenideo posterior ocupan la porción más ventral del núcleo ambiguo, orientando sus dendritas en dirección ventrolateral, entremezclándose así con las interneuronas inspiratorias que se encuentran en esta zona, denominada centro respiratorio ventral (5). De hecho, en nuestros experimentos fue frecuente el registro de interneuronas inspiratorias entremezcladas con las motoneuronas inspiratorias activadas antidrómicamente desde el nervio recurrente. El desplazamiento de las motoneuronas inspiratorias hacia la zona bulbar donde se concentra tal tipo de información respiratoria iría en apoyo de la teoría neurobiotóxica de ARIENS-KAPPERS (1), demostrada al menos en parte para otros núcleos tronco-

encefálicos, como el núcleo accesorio del motor ocular externo (2, 6).

Es de notar la enorme dependencia de la actividad funcional de las motoneuronas laríngeas de los niveles de anestesia, así como del estado ventilatorio del animal. Como se ha señalado, un nivel de anestesia muy profundo, un déficit en la oxigenación del animal o, simplemente, un cambio en el nivel de alerta modifica tan intensamente la actividad de las motoneuronas laríngeas, sobre todo de las espiratorias, que llegan a no presentar ninguna actividad espontánea, aunque pueden seguir siendo activadas por estimulación antidrómica. De ahí el interés y la importancia del registro de la actividad de estas motoneuronas en el animal despierto y alerta (5, 19).

Resumen

Se registra en gatos anestesiados la actividad espontánea de motoneuronas laríngeas, identificadas mediante su activación antidrómica por estimulación del nervio recurrente. Del total de motoneuronas registradas, un 80 % se relacionó con la fase inspiratoria y un 20 % con la espiratoria. En los límites del potencial de campo inducido por la estimulación del nervio recurrente se registró, también, la actividad de neuronas inspiratorias no activables desde los nervios vago o recurrente, así como la de neuronas, no relacionadas con la respiración, activadas desde el nervio vago.

Bibliografía

1. ARIENS-KAPPERS, S. U.: *J. Comp. Neurol.*, 27, 261-289, 1917.
2. BAKER, R., MCCREA, R. y SPENCER, R. F.: *J. Neurophysiol.*, 43, 771-791, 1980.
3. BERGER, A. J.: *Brain Res.*, 135, 231-254, 1977.
4. BIANCHI, A. L.: *J. Physiol. (Paris)*, 63, 5-40, 1971.
5. COHEN, M. I.: *Physiol. Rev.*, 59, 1105-1173, 1979.
6. DELGADO-GARCÍA, J. M., EVINGER, C. y BAKER, R.: *Soc. Neurosc., Abst.* 6, 17, 1980.

7. GACEK, K. E.: *Laryngoscope*, 85, 1841-1860, 1975.
8. HUBBARD, J. I., LLINAS, R. y QUASTEL, D. M. J.: En «Electrophysiological Analysis of Synaptic Transmission», Edward Arnold, Londres, 1969.
9. KALIA, M.: *Ann. Rev. Physiol.*, 43, 105-120, 1981.
10. KALIA, M. y MESULAM, M. M.: *J. Comp. Neurol.*, 193, 467-508, 1980.
11. KONRAD, H. R. y RATTENBORG, C. C.: *Acta Otolaryngol.*, 67, 646-649, 1969.
12. LOBERA, B., PASARO, M. R., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Neurosc. Lett.*, 23, 125-130, 1981.
13. LÓPEZ-BARNEO, J., RIBAS, J. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Brain Res.*, 214, 174-179, 1981.
14. MERRILL, B. R.: *Brain Res.*, 24, 11-29, 1970.
15. PORTER, R. J.: *J. Physiol.*, 168, 717-735, 1963.
16. SERRA, R., RIBAS, J., CANEDO, A., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, 38, 367-374, 1982.
17. SHERREY, J. H. y MEGIRIAN, D.: *Exp. Neurol.*, 49, 456-465, 1975.
18. SHERREY, J. H. y MEGIRIAN, D.: *Exp. Neurol.*, 49, 839-851, 1975.
19. SHERREY, J. H. y MERIGIAN, D.: *Resp. Physiol.*, 39, 355-365, 1980.

