

Localización de las motoneuronas de los músculos intrínsecos de la laringe en la rata

R. Pásaro, B. Lobera, S. González-Barón y J. M. Delgado-García

Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Sevilla
Sevilla

(Recibido el 4 de febrero de 1981)

R. PASARO, B. LOBERA, S. GONZALEZ-BARON and J. M. DELGADO-GARCIA. *Localization of Laryngeal Muscle Motoneurons in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 37, 317-322. 1981.

Medullar localization of laryngeal motoneurons has been studied in rat using horseradish peroxidase (HRP) as a retrograde tracer. After enzyme injection in laryngeal muscles labelled neurons were found in the nucleus ambiguus (NA) from 0.5 mm caudal to 1.5 mm rostral to the obex. The presence of labelled cells in both NA after sectioning of left recurrent laryngeal nerve showed the existence of a contralateral projection from NA motoneurons. HRP labelled cells were spindle-shaped and multipolar. NA laryngeal motoneurons were located in a well defined columnar arrangement parallel to the middle line.

Motoneurons that innervate pharyngeal and soft palate muscles were located in the anterior part of NA up to the caudal end of the nucleus facialis.

En los últimos años se ha estudiado en detalle el origen troncoencefálico de algunas de las proyecciones neuronales presentes en los nervios del vago y del glosofaríngeo. Así, la localización central de las neuronas que envían axones preganglionares a través de ambos nervios craneales ha sido identificada con ayuda de la técnica de transporte retrógrado de la enzima peroxidasa de rábano (PR) (2, 5, 6, 12, 14, 15).

Sin embargo, un aspecto aún poco conocido es la localización de los somas neuronales que inervan la musculatura intrínseca de la laringe. Si bien clásicamente se acepta (1) que dichas motoneu-

ronas se localizan en el núcleo ambiguo (NA), no está claro si existen motoneuronas laríngeas en otras estructuras troncoencefálicas, ni si la musculatura laríngea recibe una proyección monolateral o bilateral (4, 10, 16).

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la localización de las motoneuronas laríngeas en la rata mediante la técnica del transporte retrógrado de PR.

Material y métodos

En la realización de los experimentos se utilizaron 19 ratas albinas (Wistar) con pesos comprendidos entre 250 y 300 g.

Como anestésico se utilizó uretano al 12,5 % (1,2 ml/kg, i.p.), el cual potencia el transporte de PR en la rata (13).

En todos los animales se realizó una traqueotomía tras la cual la tráquea quedó abierta y fijada a la piel mediante puntos de sutura sin necesidad de canulación. En 6 de los animales se inyectó un total de 5 μ l de PR al 50 % (Sigma, tipo VI) en los músculos intrínsecos de la laringe con la ayuda de una micropipeta Hamilton. En otros 9 animales, y previamente a la inyección de idéntica cantidad de PR, se seccionó el nervio recurrente izquierdo, en 6 de ellos, o ambos nervios recurrentes en 3, lo más lejos posible de la laringe. Por último, en 4 animales se inyectó la misma cantidad de PR, en la musculatura faríngea próxima a la laringe en 2 de ellos y en el paladar blando en los otros 2, manteniendo ambos recurrentes intactos.

Los animales se sacrificaron 24-28 horas después de la inyección de PR. Se perfundieron intracardialmente con suero salino y paraformaldehído en tampón fosfato 0,1 M. Los troncos encefálicos se extrajeron y se cortaron por congelación en secciones transversales o coronales de 50 μ m de espesor. El tejido se trató con tetrametilbenzidina, según el método descrito por MESULAM (11). Las secciones se montaron en dos series paralelas; en una se realizó una tinción de contraste con rojo neutro al 0,1 %, mientras que la otra se observó directamente al microscopio. Los dibujos mostrando la localización de las neuronas marcadas con PR se realizaron con una cámara clara a partir de las secciones originales.

Resultados

En los experimentos en los que se inyectó PR en la musculatura intrínseca de la laringe manteniendo ambos recurrentes intactos, se encontraron motoneuronas marcadas en el NA de los dos lados.

Estas neuronas se encontraron desde 0,5 mm caudal hasta 1,5 mm rostral a la apertura del conducto endimario, sin alcanzar el polo posterior del núcleo facial (2 mm rostral al obex). La mayor densidad de células marcadas se observó entre 0,5 y 1 mm rostrales al obex. En ningún caso aparecieron neuronas marcadas fuera de los límites anteriormente descritos (fig. 1). Las células marcadas presentaron formas variadas, predominando las multipolares y fusiformes, pero con varias dendritas principales en la mayoría de los casos. La media del diámetro máximo fue de 22 μ m para las multipolares y 29 μ m para las fusiformes y la media de los diámetros menores de 17 μ m para las multipolares y 11 μ m para las fusiformes (fig. 2). En los cortes coronales se pudo observar las trayectorias axónicas de las neuronas marcadas. Los axones se dirigen inicialmente hacia arriba y adentro, para después hacer un giro

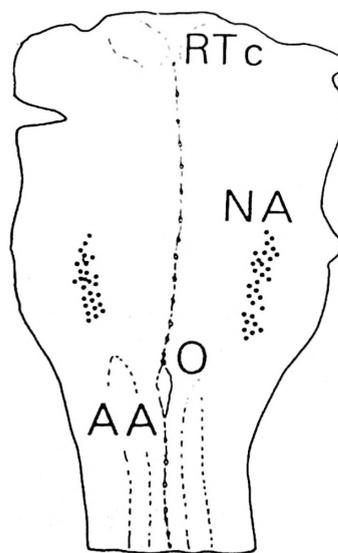


Fig. 1. Localización de neuronas marcadas con peroxidasa de rábano por inyección en la musculatura laringea.

Sección transversal. Abreviaturas: RTc, núcleo reticulado tegmental división central; NA, núcleo ambiguo; AA, asta anterior; O, obex.



Fig. 2. *Motoneuronas laríngicas marcadas con peroxidasa de rábano por inyección en la musculatura laríngica.* Sección a nivel del NA. Nótese la orientación de las dendritas en sentido perpendicular a la línea media ($\times 400$). En el ángulo de la microfotografía se muestra una motoneurona multipolar en detalle. Sección coronal ($\times 500$).

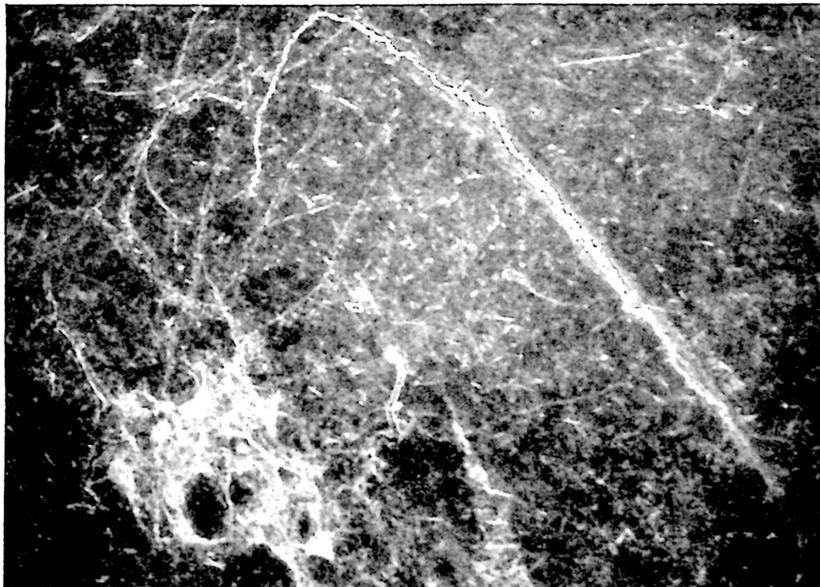


Fig. 3. *Microfotografía en campo oscuro de una sección coronal del bulbo, mostrando motoneuronas marcadas con peroxidasa en el NA y la trayectoria de varios de sus axones alejándose del núcleo tras la inyección de la enzima en los músculos laríngicos* ($\times 400$).

y orientarse lateralmente hacia la raíz del nervio vago (fig. 3).

El número total de neuronas marcadas en cada experimento osciló entre 100 y 300. En las secciones coronales las células marcadas (1-19 por sección) aparecieron formando un solo grupo. Debido

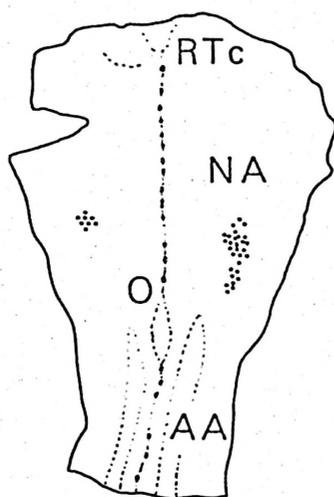


Fig. 4. Localización de neuronas marcadas con peroxidasa de rábano por inyección en la musculatura laríngea.

En este caso el nervio recurrente izquierdo fue seccionado. Sección transversal. Abreviaturas: RTc, núcleo reticulado segmental división central; NA, núcleo ambiguo; AA, asta anterior; O, obex.

a la morfología longitudinal del NA, los cortes transversales mostraron mayor número de células marcadas (1-46 por sección); en estos cortes las neuronas presentan sus árboles dendríticos perpendiculares a la línea media y paralelos entre sí (fig. 2).

En aquellos experimentos en los que se seccionó el nervio recurrente izquierdo, se encontraron células marcadas en ambos NAs, pero el NA contralateral a la sección presentó mayor cantidad de células y teñidas más intensamente que

el NA homolateral (fig. 4). En estos experimentos se obtuvo una media de 180 neuronas marcadas por animal. La distribución de dichas células en el lado contralateral a la sección fue similar a la descrita para los experimentos anteriores. En el lado homolateral a la sección sólo aparecieron neuronas marcadas en la zona del NA situada a idéntico nivel de la de mayor densidad de células marcadas del lado contralateral (fig. 4).

En los 3 experimentos en los que se seccionaron ambos nervios recurrentes se encontraron hasta un máximo de 19 células marcadas, repartidas en ambos NAs y situadas en la porción más anterior de éste, es decir, 1,5 a 2 mm rostrales al obex.

Para comprobar si estas últimas neuronas marcadas eran de naturaleza laríngea o faríngea, en dos animales se inyectó PR en la musculatura faríngea próxima a la laringe y en otros dos animales en el paladar blando. En dichos casos también se observaron neuronas marcadas en la región más anterior del NA, pero en ningún caso se observaron neuronas posteriores a 0,5 mm rostral al obex. La morfología de dichas neuronas es similar a la de las motoneuronas laríngeas, aunque se tiñen más débilmente. En esta última serie experimental la media de motoneuronas marcadas fue de 15 por animal.

Discusión

Los resultados de este trabajo experimental confirman en la ratona que las motoneuronas que inervan la musculatura intrínseca de la laringe se localizan en el NA. Resultados similares han sido descritos en el conejo (8, 9), gato (4, 10) y ratón (1). No se ha identificado ninguna motoneurona laríngea fuera de los confines anatómicos del NA, lo que se opone a lo descrito en el gato recién nacido (4). Según este último trabajo, los músculos

cricotiroideo y cricoaritenoides están inervados en parte por motoneuronas localizadas en el núcleo retrofacial, aunque tales resultados no han sido confirmados por otros autores (8-10). Una posible explicación es que en esos experimentos la PR difundiese a la musculatura faríngea, tiñendo así parte de las motoneuronas faríngeas. En cualquier caso, de la observación de las neuronas teñidas tenuemente, que se localizan en la parte anterior del NA incluso tras la sección bilateral de ambos nervios recurrentes, no se puede concluir si son motoneuronas laríngeas que envían sus axones por la rama faríngea del vago (8, 9), o bien motoneuronas faríngeas teñidas por propagación a la faringe de la PR inyectada en la laringe. Según se desprende de estos resultados, las motoneuronas faríngeas se localizan en la porción más anterior del NA hasta una zona inmediatamente posterior al núcleo facial. Idénticos resultados han sido descritos en el gato (16) tras la inyección de PR en el músculo cricofaríngeo y en el conejo (8, 9) mediante técnicas de degeneración retrógrada. También se deduce la existencia de una zona de transición en la mitad anterior del NA en la que se encuentran mezcladas motoneuronas laríngeas y faríngeas.

En el NA, no sólo coexisten a idénticos niveles neuronas motoras laríngeas y faríngeas, sino que también se han descrito neuronas centrales preganglionares que proyectan por los nervios vago y glossofaríngeo (2, 3, 12, 14, 15).

De acuerdo con los resultados obtenidos existe una proyección bilateral de las motoneuronas laríngeas en la rata. Este hecho parece tener un carácter regresivo ya que ha sido descrito en el ratón (1) y en la rata (6, 10), pero no se ha observado en el gato (4, 10), en el conejo (8, 9) o en el mono (6). Por otra parte, en la rata, las proyecciones de las motoneuronas frénicas (7) o de las neuronas preganglionares del núcleo salivar (5) tampoco tienen un carácter bilateral.

Resumen

Se estudia en rata, con ayuda de la técnica del transporte retrógrado de peroxidasa de rábano (PR), la localización troncoencefálica de las motoneuronas que inervan la musculatura laríngea. Después de la inyección de PR en los músculos intrínsecos de la laringe se encuentran neuronas marcadas dentro de los límites del NA, desde 0,5 mm caudal a 1,5 mm rostral al obex. Mediante secciones del nervio recurrente se comprueba que la proyección es de tipo bilateral. Las neuronas marcadas presentan formas multipolares y fusiformes, dispuestas en una columna de células bien definida y paralela a la línea media. Las motoneuronas que inervan la faringe y el paladar blando se localizan en la mitad anterior del NA, teniendo como límite anterior el polo posterior del núcleo facial.

Bibliografía

1. CAJAL, S. R.: En «Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés», vol. I, C.S.I.C., Madrid, 1952.
2. CONTRERAS, J., GÓMEZ, M. M. y NORGRÉN, R.: *J. Comp. Neurol.*, 190, 373-394, 1980.
3. DEGROAT, W. C., NADELHAFT, I., MORGAN, C. y SCHAUBLE, T.: *Science*, 4410, 1017-1018, 1979.
4. GACECK, K. E.: *Laryngoscope*, 85, 1841-1861, 1975.
5. HIURA, T.: *Brain Res.*, 137, 145-149, 1977.
6. KARIM, M. A. y LEONG, S. K.: *Brain Res.*, 186, 208-210, 1980.
7. KUZUHARA, S. y CHOU, S. M.: *Neurosc. Letters*, 16, 119-124, 1980.
8. LAWN, A. M.: *J. Comp. Neurol.*, 127, 293-306, 1966.
9. LAWN, A. M.: *J. Comp. Neurol.*, 127, 307-320, 1966.
10. LOBERA, B., PÁSARO, R., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Neurosc. Letters*, 23, 125-130, 1981.
11. MESULAM, M. M.: *J. Histochem. Cytochem.*, 26, 106-117, 1978.
12. NOSAKA, S., KAMAIKE, T. y YASUNAGA, K.: *Exp. Neurol.*, 60, 405-419, 1978.

13. ROGERS, R. C., BUTCHER, L. L. y NOVIN, D.: *Brain Res.*, 187, 197-200, 1980.
14. SUGIMOTO, T., ITOH, K., MIZUNO, N., NOMURA, S. y KONISHI, A.: *Neurosc. Letters*, 12, 53-58, 1979.
15. VITO DE, J. L., CLAUSING, K. W. y SMITH, O. A.: *Brain Res.*, 82, 269-271, 1974.
16. YOSHIDA, Y., MIYAZAKI, T., HIRANO, M., SHIN, T., TOTOKI, T. y KANASEKI, T.: *Neurosc. Letters*, 18, 1-4, 1980.