

Estudio de los potenciales de campo inducidos en el núcleo ambiguo por estimulación de los nervios recurrente y laríngeo superior

R. Serra, J. Ribas, A. Canedo *, S. González-Barón y J. M. Delgado-García

Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Sevilla

(Recibido el 5 de noviembre de 1981)

R. SERRA, J. RIBAS, A. CANEDO, S. GONZALEZ-BARON and J. M. DELGADO-GARCIA. *Field Potentials in the Ambiguous Nucleus Induced by Stimulation of the Recurrent and Superior Laryngeal Nerves*. Rev. esp. Fisiol., 38, 367-374. 1982.

Field potentials in the ambiguous nucleus induced by stimulation of the recurrent, superior laryngeal and vagus nerves have been recorded in the anesthetized cat. Stimulation of the ipsilateral recurrent nerve induced a positive-negative-positive antidromic field potential in the ambiguous nucleus indicating a close-field organization of laryngeal motoneurons, which showed a preferential projection of their dendritic trees in dorso-medial and ventro-lateral directions. Superior laryngeal nerve stimulation induced the sequential synaptic activation of laryngeal motoneurons. Besides laryngeal motoneurons activation, stimulation of the vagus nerve also induced the antidromic invasion of a distinct population of efferent neurons with a latency longer than those of laryngeal motoneurons.

La localización y peculiaridades electrofisiológicas de las motoneuronas que inervan la musculatura intrínseca de la laringe han sido objeto de una atención creciente en los últimos años (3, 4, 6, 8, 10, 11, 16). Entre los aspectos menos conocidos de estas motoneuronas están su relación espacial con los límites anatómicos del núcleo ambiguo (6, 8, 11, 17), así como la morfología de los potenciales de

campo inducidos en dicho núcleo por la estimulación de los nervios recurrente y laríngeo superior (7, 10, 16). En el presente trabajo se han estudiado ambos aspectos mediante el uso combinado del registro extracelular y de la estimulación eléctrica de los nervios mencionados.

Material y métodos

Se utilizaron 11 gatos adultos con pesos comprendidos entre 2 y 3,5 kg. Una vez anestesiados con pentobarbital sódico (35 mg/kg) se les practicó una traqueo-

* Dirección actual: Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela.

tomía, se les fijó una cánula traqueal y se les implantaron electrodos de estimulación en los nervios recurrente, laríngeo superior y vago del lado derecho. A tres de los animales también se les implantaron electrodos de estimulación en los mismos nervios del lado izquierdo.

Tras la implantación de electrodos, los animales se colocaron en un aparato estereotáxico realizándoseles una craniectomía de fosa posterior con el fin de permitir la introducción de los electrodos de registro. A lo largo de la experimentación se controló la respiración, la frecuencia cardíaca y la temperatura rectal de los animales (7).

Los registros se realizaron con micropipetas de cristal de 2-4 Mohmios de impedancia, llenas de una solución de CINA 2M. Como estímulos se utilizaron pulsos catódicos de 20-70 μ s de duración, a frecuencias de 1-100 Hz y con intensidades de 0,05-0,5 mA. Las señales registradas se grabaron en una cinta magnética y/o se fotografiaron directamente de la pantalla del osciloscopio.

Una vez concluidos los experimentos se procedió a marcar la zona de registro, bien mediante la inyección ionofórica de azul cielo pontamina o de la enzima peroxidasa de rábano, bien mediante la permanencia *in situ* del electrodo de registro. Los animales se perfundieron con suero salino y solución tamponada de Karnowsky, tratándose el tronco del encefalo con las técnicas ya descritas (11, 12, 18).

Resultados

En la figura 1 A se muestra un perfil de los potenciales de campo inducidos antidrómicamente a distintos niveles del núcleo ambiguo (3,5 mm lateral y 2 mm anterior al obex) por estimulación del nervio recurrente homolateral al registro. El electrodo de registro se desplazó desde el punto más superior del tronco, donde se registró alguna actividad antidrómica in-

ducida por el estímulo (3,5 mm de la superficie del tronco cerebral), hasta la zona más profunda donde desapareció todo rastro de potencial (1,25 mm por debajo del primer punto de registro). En el registro n.º 3, correspondiente de acuerdo con las coordenadas al centro del núcleo ambiguo, se puede observar un potencial positivo-negativo-positivo, con una latencia de 2,3 ms para el inicio de la primera onda positiva, inducido por estimulación del nervio recurrente. Esta primera onda positiva se correspondió con el período en que tiene lugar la despolarización del segmento inicial (fig. 2), mientras que la onda negativa se correspondió con la invasión de los somas neuronales (figs. 2 y 3).

La gran amplitud de la onda negativa en el registro n.º 3 de la figura 1 A indica que el electrodo se encontraba en la zona de mayor densidad de somas neuronales motores de la laringe, o sea, en pleno núcleo ambiguo (1, 2). Normalmente la onda negativa fue seguida de una onda positiva, visible especialmente en el centro del campo eléctrico generado por la activación antidrómica de las neuronas del núcleo ambiguo (flechas en fig. 4).

La latencia del potencial de campo varió entre 1,9 y 2,8 ms, dependiendo de la localización más o menos proximal del electrodo de estimulación. Según cálculos realizados para el conjunto de los animales estudiados, la velocidad de conducción de las fibras motoras del nervio recurrente oscila entre 35 y 60 m/s.

La máxima amplitud del potencial de campo antidrómico llegó a ser en algunos casos de hasta 2 mV. A pesar de que dicho potencial se registró en una zona relativamente amplia del bulbo, amplitudes mayores de 1 mV sólo se registraron en una zona reducida (ver más adelante), indicando una disposición muy concentrada de los somas neuronales. Estos se encuentran rodeados de prolongaciones dendríticas bastante extensas, ya que se registraron potenciales antidrómi-

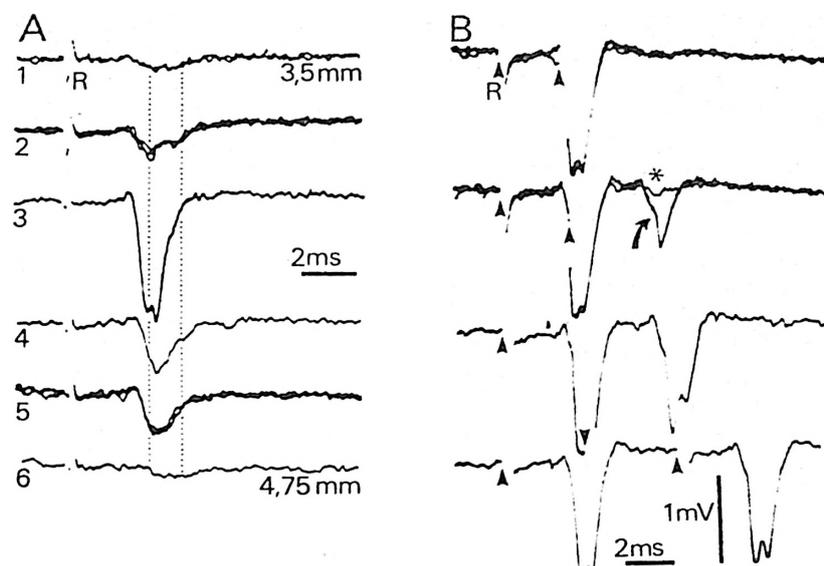


Fig. 1. Potenciales de campo inducidos en el núcleo ambiguo (nAMB) por estimulación del nervio recurrente (R) homolateral.

A) Perfil de los potenciales de campo antidrómicos registrados a distintos niveles del nAMB por estimulación del propio nervio R. La primera línea de puntos señala el progresivo desplazamiento de la onda negativa conforme el electrodo de registro se desplaza por el nAMB, y la segunda, la correspondencia entre la negatividad tardía registrada en la periferia del nAMB y la fase de repolarización a nivel de los somas neuronales situados en el centro del núcleo. B) Efectos de la aplicación de pulsos dobles en el nervio R sobre el potencial de campo registrado en el nAMB en el nivel 3 de la figura 1 A. El asterisco indica la activación antidrómica de una motoneurona laríngea puesta de manifiesto por el doble pulso.

La flecha indica la inflexión del espacio IS-SD de la neurona activada.

cos hasta 0,75 mm del punto donde se obtuvieron los mayores potenciales, si bien éstos, registrados en la periferia del núcleo, mostraron mayor latencia y menor amplitud (registro n.º 6, fig. 1 A). Tales datos electrofisiológicos se corresponden bastante bien con las descripciones morfológicas del núcleo ambiguo (6, 11, 17).

Potenciales antidrómicos de morfología semejante a la descrita se registraron en una zona que se extiende desde 0,3 mm anterior al obex y de 3-3,75 mm lateral a éste. En las porciones dorsomediales y ventrolaterales de la zona descrita se registró una onda positiva simultánea con el pico de negatividad máxima registrado

en el centro del núcleo (no ilustrado). Tal positividad puede interpretarse como el reflejo a nivel dendrítico de la generación a nivel somático de los potenciales de acción.

En la figura 1 B se muestra un doble pulso aplicado a intervalos crecientes en el nervio recurrente. Puede observarse cómo el intervalo mínimo para producir un potencial de acción en la población de motoneuronas laríngeas oscila entre 3 y 8 ms, indicando así que las frecuencias de disparo máximas de estas motoneuronas son inferiores a las de otras motoneuronas troncoencefálicas (2, 5, 19).

La estimulación del nervio vago a nivel de los primeros anillos traqueales pro-

dujo, en la zona antes referida, un potencial similar al descrito, como corresponde a la presencia en este nervio de las fibras del nervio recurrente. A este potencial se le añadió en determinadas localizaciones la presencia de una segunda onda positiva-negativa-positiva de iguales características, pero de menor amplitud y mayor latencia que la precedente (no ilustrado), la cual correspondió, probablemente, a la activación antidrómica de fibras vagales eferentes que inervan otras células motoras o ganglionares (8).

La estimulación del nervio laríngeo superior en ningún caso produjo la aparición de un potencial de campo antidrómico en la zona donde se registraron potenciales antidrómicos por estimulación del

nervio recurrente. Este resultado es particularmente interesante ya que se supone que en dicho nervio se encuentran axones de las motoneuronas que inervan el músculo cricotiroideo (4). La explicación más plausible es que dichas motoneuronas ocupan una posición más rostral al núcleo ambiguo (6), zona no explorada en los presentes experimentos, por estar fuera de los límites donde se registraron potenciales antidrómicos por estimulación del nervio recurrente. Por otra parte, la estimulación del nervio recurrente contralateral no produjo ningún efecto en el núcleo ambiguo, corroborando así los datos morfológicos acerca de la inexistencia en el gato de proyecciones cruzadas de las motoneuronas laríngeas (6, 8, 10, 11).

Se presentan dos ejemplos de identificación antidrómica de motoneuronas laríngeas dentro de los límites del potencial de campo inducido en el núcleo ambiguo por estimulación del nervio recurrente: el pico de despolarización máxima de un soma neuronal que se corresponde con la negatividad máxima registrada fuera de la célula (fig. 2), y la identificación antidrómica de otra motoneurona laríngea con un intervalo mínimo al doble pulso de 3,75 ms (fig. 3).

También se analizaron los efectos que la estimulación del nervio laríngeo superior produce sobre el potencial de campo antidrómico inducido por estimulación del nervio recurrente. Así, la estimulación produjo una activación de las motoneuronas laríngeas, durante 8-10 ms, de tipo sináptico, según se desprende de su larga latencia de activación (más de 5 ms) y de su variabilidad (fig. 4). En cualquier caso, esta activación impidió su invasión antidrómica cuando el estímulo en el nervio recurrente llegó a los somas neuronales durante su período refractario. Tal fenómeno pudo comprobarse (figura 4) por la disminución en la amplitud del potencial de campo antidrómico inducido por estimulación del nervio recu-

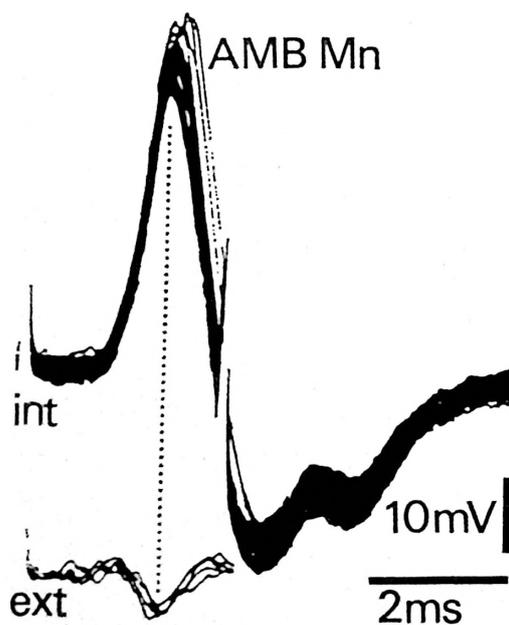


Fig. 2. Identificación antidrómica de una motoneurona laríngea (AMB Mn).

Registro extracelular (ext) y parcialmente intracelular (int) de una motoneurona laríngea activada antidrómicamente por estimulación del nervio recurrente. Para el registro extracelular la calibración es de 0,5 mV. Frecuencia de estimulación 60 Hz.

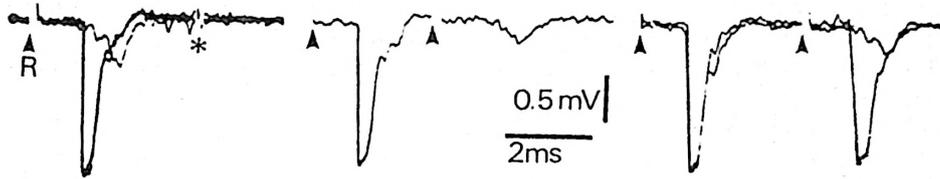


Fig. 3. Identificación antidrómica de una motoneurona laríngea. Registro extracelular. Los triángulos indican el inicio del estímulo en el nervio recurrente.

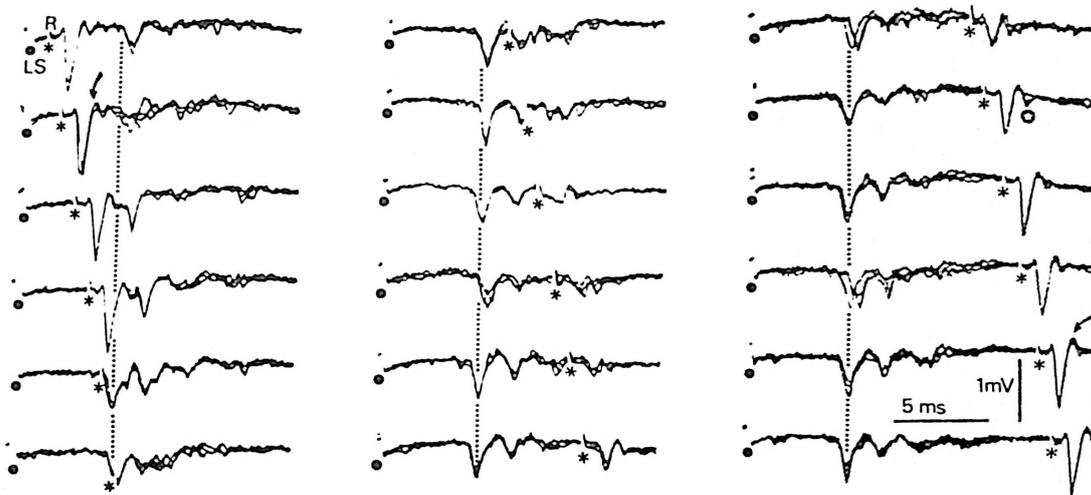


Fig. 4. Efectos de la estimulación del nervio laríngeo superior (LS) sobre el potencial de campo antidrómico inducido en el núcleo ambiguo por estimulación del nervio recurrente (R) homolateral.

Los puntos indican el artefacto de estimulación en el LS, y los asteriscos en el R. Las líneas de puntos indican la activación sináptica de motoneuronas laríngeas por estímulo del LS. Nótese la activación secuencial de grupos distintos de neuronas, presumiblemente motoneuronas laríngeas, según se deduce de su efecto sobre el potencial de campo antidrómico inducido por estimulación del R. Las flechas señalan la segunda onda positiva característica del potencial de campo antidrómico registrado en el centro del núcleo ambiguo. La estrella indica la activación todo o nada de una neurona con velocidad de conducción más lenta.

rente cuando dicho estímulo se aplicó entre 5 y 13 ms después de un estímulo aplicado en el nervio laríngeo superior. Naturalmente, la serie de registros que se muestran en la figura 4 fue realizada con el electrodo situado en el mismo punto, aproximadamente en el centro del núcleo ambiguo (1,5 mm anterior al obex, 3,5 mm lateral y 4,5 mm por debajo de la superficie del bulbo).

Discusión

Desde un punto de vista anatómico, las motoneuronas laríngeas forman un grupo relativamente compacto de somas neuronales rodeados por proyecciones dendríticas radiales, sobre todo en dirección dorsomedial y ventrolateral (6, 10, 11). Esta disposición anatómica se corresponde con la de una de «campo cerrado»

descrita por LORENTE DE NÓ (13, 14) para otros núcleos motores troncoencefálicos. Al igual que en éstos, la activación de los somas neuronales agrupados en el núcleo ambiguo produce un flujo de corriente entre el centro (somas) y la periferia (dendritas) de forma que los potenciales producidos sólo pueden detectarse en el interior del espacio delimitado por los somas motoneuronales y sus proyecciones dendríticas; de ahí la denominación de campo cerrado (2, 13, 15). El flujo de corriente de un compartimiento a otro dentro del campo explica, por ejemplo, que al mismo tiempo que se registra una negatividad en el centro del campo se registra una positividad en la periferia, sobre todo en dirección dorsomedial y ventrolateral a los somas neuronales, ya que las dendritas de las motoneuronas laríngeas proyectan preferentemente en esa dirección (6, 10, 11).

El potencial trifásico positivo-negativo-positivo registrado en el centro del núcleo ambiguo (fig. 4) se puede correlacionar perfectamente con la activación sucesiva de los distintos compartimientos neuronales. La primera onda positiva indica la llegada de la onda de despolarización axónica al nivel del núcleo ambiguo. La onda negativa corresponde a la invasión de los somas neuronales; en esta onda se pudieron distinguir a veces (fig. 1 B) dos componentes, el primero correspondiente a la invasión del segmento inicial (espacio IS) y el segundo a la invasión del soma y de las porciones proximales de las dendritas (espacio SD). Por último, la segunda onda positiva corresponde a los procesos de repolarización siguientes a la activación neuronal; esta onda coincidió en el tiempo con la despolarización de las dendritas más distales (fig. 1).

Así pues, todos los rasgos descritos en el párrafo anterior confirman la hipótesis de que las motoneuronas laríngeas se disponen desde un punto de vista electrofisiológico como un «campo cerrado» al igual que ocurre con otros núcleos mo-

tores troncoencefálicos, tales como el ocular común (13, 15), el ocular troclear (2), el ocular externo (1, 5), el ocular externo accesorio (20), el facial (9) y el hipogloso (14).

Según GACEK (6), las motoneuronas laríngeas tienden a agruparse en dos zonas distintas, unas más ventrales que dirigen sus dendritas hacia el centro respiratorio ventral (predominantemente inspiratorio) y otras más dorsales que dirigen sus dendritas hacia el centro respiratorio dorsal (predominantemente espiratorio). Las motoneuronas integrantes del primer grupo serían las que inervan el músculo cricoaritenoso posterior (abductor), mientras que las que forman el segundo grupo serían las que inervan la musculatura abductora de la laringe. Dicha disposición de las motoneuronas laríngeas, condicionada filogenéticamente, se confirma, desde un punto de vista electrofisiológico, por potenciales de campo registrados en la periferia del núcleo ambiguo en los presentes experimentos.

Por otra parte, la estimulación del nervio laríngeo superior produjo la despolarización sucesiva de la mayoría de las motoneuronas laríngeas, de ahí su largo efecto sobre la invasión antidrómica de dichas motoneuronas por estimulación del nervio recurrente. Esta intensa activación secuencial de origen sináptico refleja indica un complejo patrón de respuesta en el que, probablemente, se hayan implicados todos los músculos intrínsecos de la laringe (4).

Resumen

Se han registrado en el gato anestesiado los potenciales de campo inducidos en el núcleo ambiguo por estimulación de los nervios recurrente, laríngeo superior y vago. La estimulación del nervio recurrente produjo un potencial de campo positivo-negativo-positivo de carácter antidrómico, indicando la disposición en campo cerrado de las motoneuronas laríngeas, las cuales proyectan sus dendritas de modo preferente en dirección dorsomedial y

ventrolateral. La estimulación del nervio laríngeo superior produjo la activación sináptica secuencial de las motoneuronas laríngeas. La estimulación del nervio vago produjo, aparte de la activación de las motoneuronas laríngeas, la invasión antidrómica de neuronas eferentes de latencia más larga que la de las motoneuronas laríngeas.

Bibliografía

1. BAKER, R., MANO, N. y SHIMAZU, H.: *Brain Res.*, **15**, 573-576, 1969.
2. BAKER, R. y PRECHT, W.: *Exp. Brain Res.*, **14**, 127-157, 1972.
3. BISCOE, T. J. y SAMPSON, S. R.: *J. Physiol.*, **209**, 359-373, 1970.
4. COHEN, M. I.: *Physiol. Rev.*, **59**, 1105-1173, 1979.
5. DELGADO-GARCÍA, J. M., LÓPEZ-BARNEO, J., RIBAS, J. y MIR, D.: *XVIII Reunión de la S.E.C.F.*, Valencia, 1979. A-035.
6. GACEK, K. E.: *Laryngoscope*, **85**, 1841-1860, 1975.
7. GONZÁLEZ-BARÓN, S., LÓPEZ-BARNEO, J. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *XVIII Reunión de la S.E.C.F.*, Valencia, 1979. A-034.
8. KALIA, M. y MESULAM, M. M.: *J. Comp. Neurol.*, **193**, 467-508, 1980.
9. KITAI, S. T., TANAKA, J., TSUKAHARA, N. y YU, H.: *Exp. Brain Res.*, **16**, 161-183, 1972.
10. LOBERA, B., PASARO, M. R., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Neurosc. Lett., Suppl.* **5**, S142, 1980.
11. LOBERA, B., PASARO, M. R., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Neurosc. Lett.*, **23**, 125-130, 1981.
12. LÓPEZ-BARNEO, J., RIBAS, J. y DELGADO-GARCÍA, J.: *Brain Res.*, **214**, 174-179, 1981.
13. LORENTE DE NO, R.: *J. Neurophysiol.*, **2**, 404-464, 1939.
14. LORENTE DE NO, R.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, **29**, 207-287, 1947.
15. LORENTE DE NO, R.: En «The Spinal Cord» (G. E. W. Wolstenholme y J. S. Freeman, eds.). Little, Brown and Co., Boston, 1953, pp. 132-179.
16. MERRILL, E. G.: *Brain Res.*, **24**, 11-29, 1970.
17. PASARO, M. R., LOBERA, B., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **37**, 317-322, 1981.
18. RIBAS, J., DELGADO-GARCÍA, J. M., LÓPEZ, A. y MIR, D.: *Rev. esp. Fisiol.*, **37**, 45-52, 1981.
19. ROBINSON, D. A. J.: *J. Neurophysiol.*, **33**, 393-404, 1970.
20. SERRA, R. y DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **36**, 457-462, 1980.

