

Conexiones del tronco del encéfalo con la corteza cerebral en la rata

J.Ullán*/J.Artieda*

RESUMEN

Se han estudiado las proyecciones del tronco del encéfalo sobre la corteza cerebral en 51 ratas, mediante el método del transporte retrógrado de la HRP.

Todas las áreas corticales reciben fibras del núcleo medial y dorsal del rafe, así como del locus coeruleus homolateral y en menor medida del contralateral. Sin embargo, las zonas con mayor número de conexiones son las frontales y las temporo-parietal posterior (A-41, A-20, A-39, A-40).

Estas fibras están terminando en las capas corticales profundas. Asimismo, hemos comprobado que las áreas cingulares reciben algunas fibras de neuronas situadas en la zona tegmental ventral homolateral, y que a la corteza motora llegan fibras desde la pars compacta de la sustancia negra homolateral, siendo las originadas en la parte más medial las que terminan en la corteza medial.

Introducción

La gran importancia del tronco del encéfalo en la regulación del ciclo sueño-vigilia y en el mantenimiento del estado de conciencia es conocida desde hace tiempo. En este sentido, las conexiones del tronco

del encéfalo con el cortex juegan un papel de excepción.

Varios son los autores que describen aferencias a corteza desde el tronco del encéfalo. Brodal² en un trabajo que realizó sobre los núcleos del rafe, observó que enviaban fibras ascendentes de largo recorrido que supuso podrían estar llegando a las capas corticales. Estas conexiones han sido confirmadas en trabajos posteriores^{9, 10, 21}.

También se han descrito aferencias a corteza desde el locus coeruleus^{5, 11, 12}, no habiendo un total acuerdo sobre qué áreas corticales están proyectando estos núcleos.

En este trabajo intentamos hacer un estudio global y sistemático de estas importantes conexiones, procurando aclarar si son difusas o se proyectan sobre áreas corticales específicas.

Material y métodos

Para este estudio se han utilizado 51 ratas blancas de ambos sexos, cuyo peso aproximado era de 250 g.

Estereotáxicamente, y bajo anestesia con nembutal (30 mg/kg), se les inyectó peroxidasa de rábano (HRP) en las distintas áreas corticales. Las inyecciones se realizaron con ayuda del microscopio de operaciones y mediante una microjeringa tipo Hamilton, en cuya punta se le añadió un microcapilar, con el fin de hacer un depósito de HRP lo más localizado posible y sin lesionar el tejido circundante.

La cantidad de HRP inyectada fue de 0,02 μ l de una disolución de 1 mg de HRP en 2 μ l de suero fisiológico. La inyección se realizó muy lentamente, en un tiempo que oscilaba alrededor de los 45 minutos, para no producir una brusca distensión del tejido, que pudieran dañar las estructuras de dicha zona (sinapsis, axones, etc.).

El período de supervivencia de los animales ha sido de 24 a 36 horas, al cabo del cual fueron anestesiados y perfundidos con 30 cc de rheomacrodex, seguidos de 25 cc de karnousky disueltos en 100 cc de agua destilada.

Una vez aislado, fue seccionado

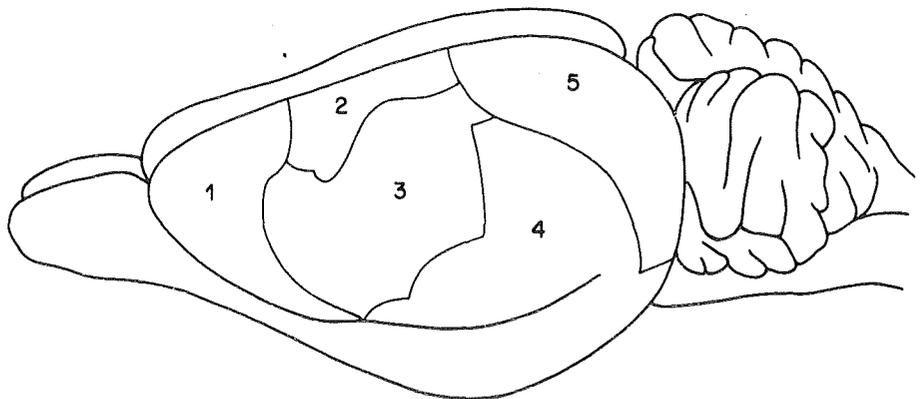


Fig. 1.—Esquema del cortex cerebral de la rata, con las 5 zonas en las que se han agrupado las diferentes inyecciones de HRP.

* Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

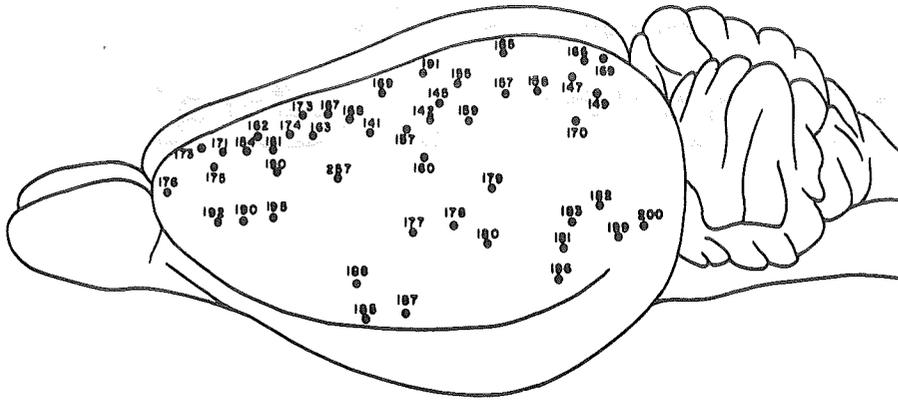


Fig. 2.—Esquema del cortex cerebral de la rata, mostrando los puntos donde se realizaron las inyecciones de HRP.

seriadamente el encéfalo con microtomo de congelación y teñido según la técnica descrita por Llamas y Martínez Moreno⁹.

La localización del depósito de HRP en las distintas áreas corticales se hizo mediante el atlas de corteza de Skinner²³ y la situación en los distintos núcleos troncoencefálicos de las neuronas con gránulos de HRP se llevó a cabo mediante el atlas de König y Klippel⁶, para mesencéfalo, y el de Abad-Alegría¹, para bulbo y protuberancia.

Resultados

Las 51 ratas se han dividido en 5 grupos de acuerdo con la zona de inyección de la HRP (fig. 1).

Inyecciones en áreas frontales

Dentro de este grupo hemos incluido todos los animales en los que la inyección se practicó en el área diez (A-10) y área ocho (A-8) (fig. 2).

En todos los animales, a excepción del R-174 en el que el depósito de HRP fue muy pequeño y superficial, se encuentran neuronas marcadas en el núcleo medial y dorsal del rafe. Las neuronas eran más abundantes en el lado homolateral a la inyección observándose también alguna en el lado contralateral. Asimismo, aparecían neuronas con HRP en el locus coeruleus tanto homolateral como contralateral, siendo más abundantes en el primero. El número de neuronas marcadas en estos núcleos lo podemos calificar de alto (fig. 3).

En la rata R-175, en el que la inyección fue en A-10, pero la HRP

difundió a áreas motoras y en menor grado a áreas cingulares (A-24), aparecieron neuronas marcadas además de los núcleos ya mencionados, en la parte más medial de la parte compacta de la sustancia negra homolateral y en el área tegmental ventral homolateral y sustancia gris central.

En el animal R-176 además de los

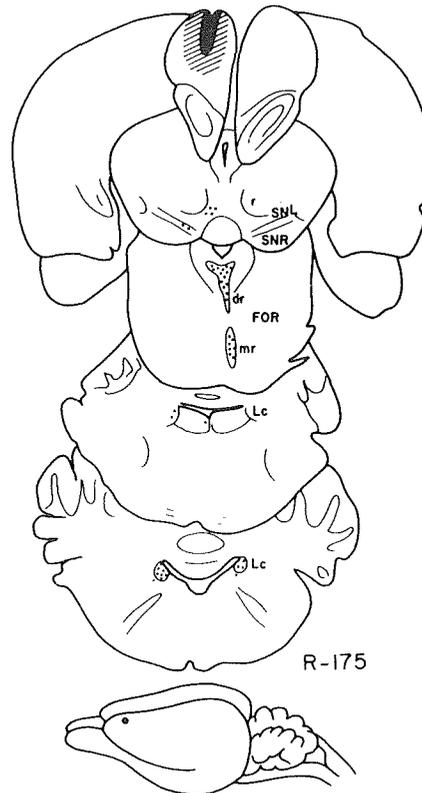


Fig. 3.—Esquema de la localización de neuronas con gránulos de HRP (puntos negros), en un animal con inyección en áreas frontales (zona rayada), dr = núcleo dorsal del rafe, Lc = locus coeruleus, Li = núcleo linearis pars intermedia, mr = núcleo medial del rafe, SNC = sustancia negra pars compacta.

núcleos dorsal y medial del rafe y del locus coeruleus, presentaban escaso número de neuronas con gránulos de HRP el núcleo linearis pars caudalis e intermedia y la sustancia gris central.

Inyecciones en áreas motoras

En todos los animales, a excepción del R-190 en el que el depósito de HRP fue pequeño y muy superficial, aparecieron neuronas marcadas en los núcleos dorsal y medial del rafe. El número de neuronas con HRP era mucho más escaso que en el grupo anterior. Sólo en dos animales, R-173 y R-164, aparecen neuronas marcadas en locus coeruleus, siendo más abundantes en el núcleo homolateral.

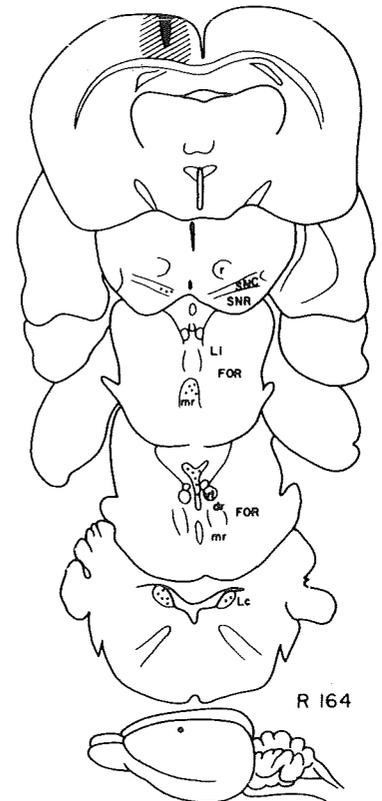


Fig. 4.—Esquema de la localización de neuronas marcadas en un animal con inyección en área motora.

Igualmente, en la totalidad de los animales, hemos encontrado neuronas con gránulos de HRP, en la parte más medial de la pars compacta de la sustancia negra (fig. 4). Sólo en el R-257, estas neuronas se localizan en la parte lateral de la pars compacta; en este animal la inyección afectó la parte más lateral del

A-4 difundiendo la HRP ligeramente al A-3.

En la rata R-173, en la que el depósito de HRP es grande y difunde hasta A-24 y A-10, es mucho mayor el número de neuronas marcadas en las zonas ya mencionadas. Además, encontramos neuronas HRP positivas en el área tegmental ventral homolateral y alguna en el núcleo linearis pars medialis y pars intermedia y en sustancia gris homolateral.

Inyecciones en áreas parietales

En este apartado hemos agrupado a los animales que fueron inyectados en las áreas A-1, A-2, A-3 o A-7 (figs. 1 y 2). En algunos casos el enzima difundió hasta áreas occipitales A-17, A-18, no observándose mayores diferencias con los otros animales.

En todos los casos aparecieron somas neuronales con HRP, en los núcleos dorsal y medial del rafe y en el locus coeruleus homolateral. El número de neuronas es escaso (fig. 5).

En dos animales, R-177 y R-178, en los que se depositó la HRP en el

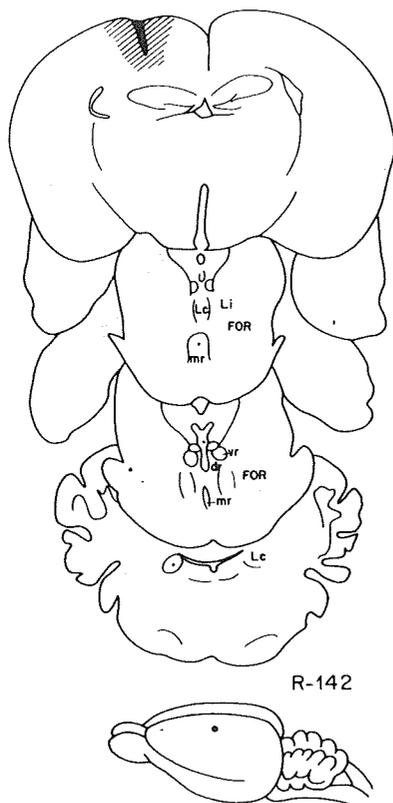


Fig. 5.—Esquema mostrando la localización de neuronas con HRP en un animal con inyección parietal.

A-2, pero difundió a hipocampo y núcleo putamen caudado, aparecieron neuronas marcadas en sustancia negra homolateral y área tegmental ventral del mismo lado; así mismo se vieron dichas neuronas en una zona de formación reticular mesencefálica inmediatamente lateral al núcleo medial del rafe. El número de estas neuronas marcadas fue escaso. Una zona donde se observaron abundantes neuronas marcadas fue la de los núcleos cuneatus y gracilis contralaterales. Es necesario resaltar que en ambos casos se puso un especial cuidado en la localización de la zona de depósito de la HRP, siendo difícil en el primer animal por defectos en la tinción; no fue así en el segundo animal, en el que no se apreció difusión alguna a núcleos talámicos.

En una rata R-160, en la que hubo gran hemorragia en la zona de inyección, siendo pequeño el depósito de HRP, no se encontró ningún soma marcado en el tronco del encéfalo.

Inyecciones en áreas parietales posteriores y temporales

Este grupo, debido a la proximidad de las zonas y afinidad de los hallazgos, lo hemos formado con los animales en los que la inyección de HRP afectaba a áreas parietales posteriores, es decir, A-39 y A-40, y áreas temporales A-41 y A-20 (figs. 1 y 2).

En todos los animales de este grupo se ve una enorme densidad de neuronas con gránulos de HRP en los núcleos dorsal y medial del rafe, siendo más abundantes en el primero de ellos. Asimismo, hemos encontrado gran cantidad de estas neuronas en el locus coeruleus homolateral y en bastante menor cantidad en el núcleo contralateral (fig. 6).

En el R-180, la HRP difundió a núcleo caudado putamen viéndose en tronco del encéfalo neuronas marcadas, además de en los ya mencionados núcleos, en sustancia negra homolateral y área tegmental ventral igualmente homolateral.

En las ratas R-182 y R-199, la inyección se practicó en A-20 y A-41, pero la HRP difundió mucho, llegando hasta A-35 y A-36, así como a hipocampo, encontrándose neuronas con HRP además de en los núcleos dorsal y medial del rafe y locus coeruleus, en la formación reticular mesencefálica homolateral en una zona inmediatamente lateral al núcleo medial del rafe.

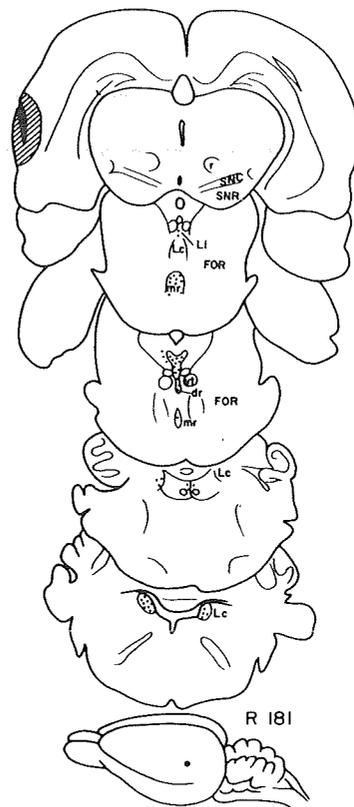


Fig. 6.—Esquema de la localización de neuronas con gránulos de HRP en un animal con inyección en zona temporo-parietal posterior.

En dos animales se vieron neuronas marcadas en el núcleo linearis pars intermedia.

Dentro de este apartado también se han incluido 3 animales con inyección en áreas insulares y piriformes.

En uno de ellos, R-176, la inyección fue pequeña, viéndose solamente escasas neuronas con gránulos de HRP en el núcleo dorsal del rafe.

En el resto de los animales el depósito de HRP ha sido muy extenso, y difunde hasta el A-40, así como a hipocampo. Dentro del tronco del encéfalo hemos encontrado neuronas con gránulos de HRP en los núcleos dorsal y medial del rafe, locus coeruleus homolateral y en menor cantidad en el núcleo linearis pars caudalis y pars intermedia y en la zona de formación reticular mesencefálica inmediatamente lateral al núcleo medial del rafe antes descrita.

En el R-188, en el que la inyección afectó también al núcleo caudado putamen, hemos hallado dichas neuronas, además, en la sustancia negra homolateral y área tegmental ventral del mismo lado.

Inyecciones en áreas cingulares posteriores y occipitales

Dentro de este grupo hemos incluido tres animales en los que la inyección de HRP afectó únicamente al A-29 y de uno en el que el depósito es occipital puro, afectando a A-17 y A-18.

En los tres primeros casos hemos encontrado escaso número de neuronas con HRP en los núcleos medial y dorsal del rafe y locus coeruleus homolateral. También en los tres animales se vieron en área tegmental ventral homolateral, pero en una zona muy anterior y cercana ya al diencéfalo. El número de estas neuronas fue muy escaso (fig. 7).

En el otro caso, con depósito de HRP en áreas occipitales, encontramos escasas neuronas marcadas en los núcleos dorsal y medial del rafe.

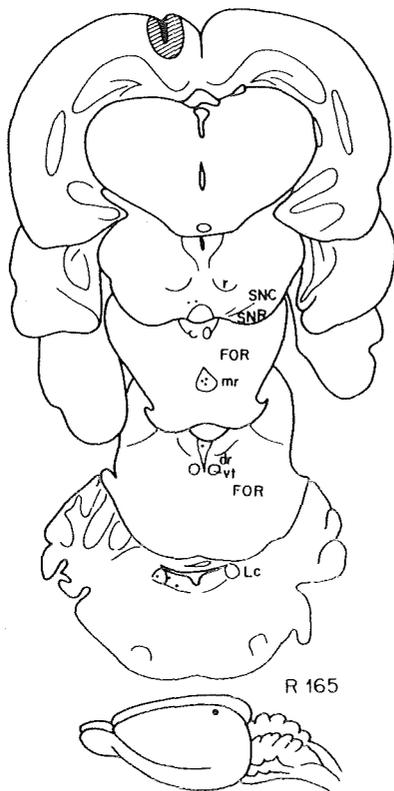


Fig. 7.—Esquema mostrando la localización de neuronas marcadas en un animal con inyección en área cingular posterior.

Discusión

Estos hallazgos demuestran la existencia de conexiones directas desde el tronco del encéfalo hasta el cortex cerebral. El origen de estas conexiones se encuentra a nivel del istmo pontomesencefálico, y más



Fig. 8.—Neuronas con gránulos de HRP en locus coeruleus homolateral (255 X).

concretamente a nivel de los núcleos serotoninérgicos medial y dorsal del rafe, ya que tras depósito de HRP en corteza, prácticamente en todos los animales, aparecen neuronas marcadas en estos núcleos.

Estos resultados confirman lo sospechado por Brodal² y lo descrito posteriormente por Skinner²³, Reinoso-Suárez y Llamas¹⁸ y Robillier²⁰.

Otro origen de estas conexiones es el locus coeruleus, núcleo monoaminérgico, donde aparecen también abundantes neuronas con gránulos de HRP. Tales conexiones han sido puestas en duda por McBride y Sutin^{13,14} y afirmadas por Maeda^{11,12} y Shimizu²¹.

Como vemos, pues, hay casi un total acuerdo sobre la existencia de estas proyecciones directas al cortex, no habiéndolo tanto sobre las zonas de corteza a las que están proyectando estos núcleos. Por lo que respecta a la topografía de estas proyecciones del locus coeruleus, Maeda^{11,12} y Shimizu²¹ hablan a favor de una proyección difusa sobre la totalidad de la corteza homolateral y en menor grado sobre la contralateral. Pickel¹⁷ describe sólo conexiones de este núcleo con la corteza del subículo, cíngulo; frontal y piriforme. Reinoso-Suárez

y col¹⁹ han observado, tras realizar hemisecciones troncoencefálicas, fibras degeneradas en corteza frontal y surco rínico, siempre que se hallan afectados el núcleo dorsal y medial del rafe y el locus coeruleus. Llamas¹⁰ sólo describe conexiones de estos núcleos con el gyrus preceus. Ultimamente, Robillier²⁰, aunque habla de una proyección difusa de los núcleos del rafe sobre toda la corteza, admite que es más abundante en número de aferencias a la corteza frontal.

Nosotros hemos comprobado cómo, tras depositar HRP en las distintas áreas corticales, aparecieron somas neuronales marcadas, prácticamente en la totalidad de los animales, en los núcleos medial y dorsal del rafe y en el locus coeruleus, siendo bastante más abundantes en el lado homolateral que en el contralateral. Estos resultados hablan a favor de una proyección difusa de estos núcleos sobre toda la corteza homolateral y en menor medida sobre la contralateral.

No obstante, las zonas corticales que reciben mayor número de fibras son las frontales y la zona temporo-parietal posterior, que comprende las áreas A-20, A-39, A-40 y A-41.

Dada la proximidad de esta zona con el hipocampo, y las aferencias que éste recibe del núcleo dorsal y en especial del núcleo medial del rafe^{16,17,20}, hemos prestado gran atención en la localización y delimitación del depósito de HRP, compro-



Fig. 9.—Neuronas con gránulos de HRP en núcleo dorsal del rafe (384 X).

bando que sólo en cinco animales podría haber difundido al hipocampo. En esos casos aparecían neuronas marcadas en formación reticular mesencefálica homolateral, en una zona inmediatamente lateral al núcleo medial del rafe.

El hallazgo de neuronas con gránulos de HRP en la zona tegmental ventral, área de paso de las fibras que ascienden del núcleo dorsal y medial del rafe hacia la corteza²¹, tras inyecciones en áreas cingulares, indica la existencia de neuronas cuyo axón, posiblemente entremezclado con estas fibras, se dirige hacia la zona cingular de la corteza homolateral.

El hecho de que en los animales con inyección de HRP, escasa y superficial, no hayan aparecido neuronas marcadas o aparezcan sólo en algunos de los núcleos habituales, cabe interpretarlo admitiendo que tales fibras estén terminando en las capas profundas del cortex¹⁹.

En los animales del grupo 2, con inyecciones en corteza motora, se encontraron neuronas con HRP en la parte más medial de la pars compacta de la sustancia negra homolateral, ratificando, pues, las conexiones de este núcleo con corteza motora^{8,15}. En el único caso en el que la inyección afectó la parte más lateral de esta zona del cortex, se encontraron dichas neuronas en la parte lateral de la pars compacta, coincidiendo, por tanto, con Molina Negro¹⁵, que tras ver degeneración en esta zona en lesiones que afectan al gyrus coronal, indica cómo la parte más medial de este núcleo estaría proyectando a la corteza motora más medial y la parte lateral a la corteza más lateral.

Bibliografía

1. Abad-Alegria F. *Etereotaxia troncocefálica de la rata*. Trab Inst Cajal. 6, 103, 1971.
2. Brodal A, Taber E, Walberg F. *The raphe nuclei of the brain stem. II Efferent connections*. J. Comp Neurol. 114, 239, 1960.
3. Jouvet M. *Neurophysiology of the states of the sleep*. Physiol Rev. 47, 117, 1967.
4. Jouvet M. *The role of monoamine and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle*. Ergeb Physiol. 64, 166, 1972.
5. Kievit J, Kuypers H. *Subcortical afferent to the frontal lobe in the rhesus monkey studied by means of retrograde HRP*. Brain Res. 85, 261, 1975.
6. König J, Klippel R. *The rat brain. A stereotaxic atlas*. Williams and Wilkins Company. Baltimore. 1963.
7. La Vail JM, Winston KR, Tish A. *A method based on retrograde intraxonal transport of protein for identification of cell bodies of origin of axons terminating within the C.N.S.* Brain Res. 58, 470, 1973.
8. Llamas A. *Conexiones eferentes de la sustancia negra y del área tegmental ventral del Tsai*. An Anat. 18, 355, 1965.
9. Llamas A, Martínez-Moreno E. *Modificaciones al método de transporte retrógrado axonal de la horseradish peroxidase en el S.N.C. del gato adulto*. An Anat. 23, 3, 1974.
10. Llamas A, Reinoso-Suárez F, Martínez-Moreno E. *Projections to the gyrus preus from the brain stem tegmentum (locus coeruleus, raphe nuclei) in the cat, demonstrated by retrograde transport of HRP*. Brain Res. 89, 231, 1975.
11. Maeda T, Shimizu N. *Projections ascendentes du locus coeruleus et d'autres neurones aminergiques pontiques au niveau du prosencéphale du rat*. Brain Res. 36, 19, 1972.
12. Maeda T, Shimizu N. *Les neurones contenant catécholamines du tegmentum pontique et leurs voies de projection chez le chat*. Brain Res. 57, 119, 1973.
13. McBride RL, Sutin J. *Projections of the locus coeruleus*. Anat Rec. 175, 376, 1973.
14. McBride RL, Sutin J. *Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat*. J Comp Neurol. 165, 265, 1969.
15. Molina Negro A. *Conexiones nigrocorticales (estudio en el gato con el método de la degeneración retrógrada)*. An Anat. 18, 293, 1969.
16. Pasquier D, Reinoso-Suárez F, Morgane P. *Effect of raphe lesions on brain serotonin in the cat*. Brain Res. 1, 279, 1976.
17. Pickel WM, Legal M, Bloom FE. *A radioautographic study of the efferent pathways of the nucleus locus coeruleus*. J. Comp Neurol. 155, 15, 1974.
18. Reinoso-Suárez F, Llamas A. *Conexiones aferentes a corteza frontal desde tegmento pontomesencefálico (locus coeruleus, núcleo rafe y sustancia negra) en la rata*. An Anat. 24, 327, 1975.
19. Reinoso-Suárez F, Martínez-Moreno E, Nava B. *Conexiones ascendentes desde el tronco del encéfalo a formaciones del hipocampo*. An Anat. 23, 95, 1974.
20. Robillier P, Sequins S, Petit Jean F, Salvert D, Touret M, Jouvet M. *The raphe nuclei of the cat brain stem, a topographical of their efferent projections atlas is revealed by autoradiography*. Brain Res. 113, 449, 1976.
21. Shimizu N. *Demonstration by degeneration silver method of the ascending projections from the locus coeruleus*. Exp Brain Res. 20, 181, 1974.
22. Shinar S, Maciewicz RJ, Shofar RJ. *A raphe projection local cerebellar cortex*. Brain Res. 97, 139, 1975.
23. Skinner IE. *Neuroscience. A laboratory manual*. 64. Saunders Company. Philadelphia. 1971.

CONNECTIONS OF THE BRAIN STEM WITH THE CEREBRAL CORTEX IN THE RAT.

Summary

The projection of brain stem to the cerebral cortex in fifty one rats has been studied, by means of the method of HRP. All the cortical areas receive fibers from the dorsal and medial nuclei of the raphe, as well as from the ipsilateral locus coeruleus and, to a lesser extent, from the contralateral. Nevertheless, the zones with the major number of connections are the frontal and the posterior parietal-temporal. These fibers terminate in the deep cortical layers. Therefore, we have verified that the cingular areas receive some fibers from neurons situated in the ipsilateral ventral tegmental zone and that motor cortex receives fibers from the pars compacta of the ipsilateral substantia nigra, with a certain topographical distribution.