

Sistematización morfo-funcional del complejo motor facial del perro. Análisis de las neuronas de origen de los ramos periféricos del nervio facial, identificadas por transporte axónico retrógrado de peroxidasa.

Alberto Prats Galino

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

' SISTEMATIZACION MORFO-FUNCIONAL DEL COMPLEJO MOTOR
FACIAL DEL PERRO. ANALISIS DE LAS NEURONAS DE ORIGEN
DE LOS RAMOS PERIFERICOS DEL NERVIO FACIAL, IDENTI-
FICADAS POR TRANSPORTE AXONICO RETROGRADO DE PERO-
XIDASA' .

Tesis Doctoral presentada para
aspirar al Grado de Doctor

Alberto PRATS GALINO

Barcelona, 1987

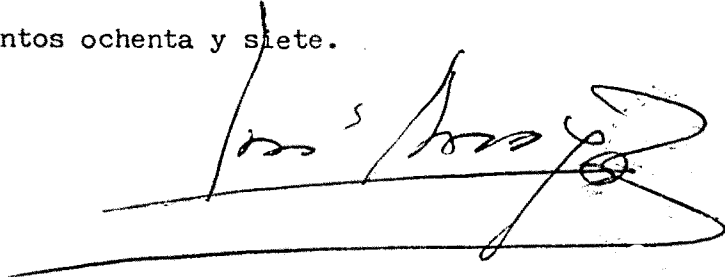
FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA
PROF. Dr. D. RUANO GIL

CASANOVA, 143 - BARCELONA - 36 (ESPAÑA)

José ARROYO GUIJARRO, Profesor Encargado de Curso del Departamento de Ciencias Morfológicas y Odontoestomatología de la Universidad de Barcelona,

C E R T I F I C A: que D. Alberto PRATS GALINO, ha realizado la Tesis Doctoral titulada " SISTEMATIZACION MORFO-FUNCIONAL DEL COMPLEJO MOTOR FACIAL DEL PERRO. ANALISIS DE LAS NEURONAS DE ORIGEN DE LOS RAMOS PERIFERICOS DEL NERVIO FACIAL, IDENTIFICADAS POR TRANSPORTE AXONICO RETRO-GRADO DE PEROXIDASA " bajo mi Dirección en la Unidad de Neuroanatomía Comparada de este Departamento.

Y para que conste firma la presente en Barcelona a diez de Abril de mil novecientos ochenta y siete.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José Arroyo Guijarro', is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat cursive.

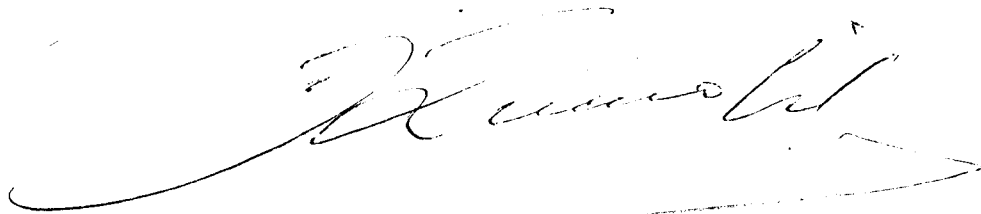
FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA
PROF. DR. D. RUANO GIL

CASANOVA, 143 - BARCELONA - 36 (ESPAÑA)

Domingo RUANO GIL, Catedrático y Director del Departamento de Ciencias Morfológicas y Odontostomatología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona,

CERTIFICA: que D. Alberto PRATS GALINO., ha realizado la Tesis Doctoral titulada " SISTEMATIZACION MORFO-FUNCIONAL DEL COMPLEJO MOTOR FACIAL DEL PERRO. ANALISIS DE LAS NEURONAS DE ORIGEN DE LOS RAMOS PERIFERICOS DEL NERVIO FACIAL, IDENTIFICADAS POR TRANSPORTE AXONICO RETROGRADO DE PEROXIDASA " en la Unidad de Neuroanatomía Comparada de este Departamento.

Y para que conste, firma la presente en Barcelona a diez de abril de mil novecientos ochenta y siete.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'D. Ruano Gil', with a long, sweeping underline that extends to the right and then curves back under the signature.

A Laia.
A mis padres.

"Y a la hora de juzgar debemos despersonalizarnos, olvidar prejuicios seductores, propios o ajenos, y ver las cosas, según decía GRACIAN, como si fueran contempladas por primera vez".

Santiago Ramón y Cajal. 1952.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Arroyo Guijarro, Director de la 'Unidad de Neuroanatomía Comparada' del Departamento de - Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona (U. B.), cuyas orientaciones han hecho posible la realización de la presente Tesis Doctoral.

Al Profesor Dr. Domingo Ruano Gil, Catedrático del Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la U. B., por su constante interés y apoyo incondicional en todos los aspectos relacionados con la elaboración de esta Tesis.

A Cristina Costa Llobet, Profesor Ayudante del Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la U. B., por su inestimable colaboración tanto en la fase experimental de la Tesis - como en la redacción y presentación de la misma.

A Elisenda Coll, componente de la Sección de Análisis de Imágen del Servicio de Microscopía de la U. B., y al Dr. Jordi Lopez i Camps, Subdirector Jefe de la Sección de Microscopía de Transmisión del mismo Servicio, por la asistencia prestada en la realización del estudio morfométrico.

A Josep Vela, Albert Trepas y Begoña Campos, colaboradores de la Sección de Gráficos del Centro de Informática de la U.B., por su contribución en el tratamiento informático de los modelos tridimensionales del núcleo facial generados por ordenador.

A mis compañeros y amigos, Dr. Manuel Llusá Perez, Dr. Fermín Vinaixa Cortay, Dr. Jesús Costa Vila, Dra. Helena Estopá Pujol, y demás miembros de mi Departamento, de los que he recibido un apoyo constante, expresando igualmente mi agradecimiento a M^ã Teresa Sabat Del Riu por la ayuda prestada en el procesamiento, microtomía y tinción del material histológico utilizado en esta Tesis.

Y muy especialmente, al Dr. Jose Luis Velayos, Profesor del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, a su Director, el Profesor Dr. Fernando Reinoso Suárez, y al resto de colaboradores de este Departamento, quienes nos iniciaron en la práctica de las técnicas HRP-neurohistoquímicas y ofrecieron su ayuda en todo momento.

Por último, agradecer al Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social la ayuda concedida (expediente N^o 86/634) que ha subvencionado parcialmente el presente Proyecto.

MOTIVACION PERSONAL

En el año 1978, cuando estudiaba el tercer curso de Licenciatura en la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona (U.B.), inicié mi primer contacto con el Departamento de Anatomía Humana del Profesor Dr. Domingo Ruano Gil, habiendo sido nombrado, el año 1982, Alumno Interno por Oposición. Terminada la Licenciatura, y desde el año 1984 vengo desarrollando el cargo de Profesor Ayudante de Clases Prácticas. En dicho Departamento entré a formar parte de la 'Unidad de Neuroanatomía Comparada', dirigida por el Dr. José Arroyo Guijarro.

Durante varios años nuestra Línea de Investigación ha estado interesada en el estudio de un modelo laminar, el Hipocampo y circunvoluciones intralímbicas, y particularmente hemos trabajado sobre la influencia que ejercen ciertos factores ambientales en la organización de estas estructuras. Para ello, se han efectuado estudios comparativos entre especies domésticas y salvajes, comprobándose diferencias en el espesor y celularidad en algunos estratos del Hipocampo, e incluso cambios en la morfología neuronal, como consecuencia de la domesticación.

A pesar de la singular regularidad que caracteriza la disposición de células y fibras nerviosas en es-

tas estructuras laminares, la imprecisión de sus límites topográficos, el elevado número de elementos neuronales que contienen y su intrincada red de conexiones, representan una seria limitación en su aplicación indiscriminada como modelos experimentales en estudios neurohistológicos, bioquímicos o electrofisiológicos.

Esta serie de inconvenientes, junto con la dificultad que existe a la hora de contrastar resultados cuando se utilizan modelos laminares, plantearon la posibilidad de abordar, a partir de mi último año de Licenciatura, el estudio de la organización del complejo nuclear del nervio facial, cuya población numericamente reducida, y de fácil identificación morfológica y topográfica, su diferenciación en subcentros funcionales, demostrada en algunas especies, así como la posesión de una vía eferente específica, lo presentaban 'a priori' como un modelo experimental alternativo a las formaciones laminares.

El análisis de la organización musculotópica del núcleo motor facial del perro, que no ha sido objeto de una revisión sistemática en las últimas décadas, reviste otro tipo de interés. La descripción por varios autores de paralelismos en la sistematización morfológica y funcional entre el núcleo facial del perro y el núcleo homólogo humano abre la posibilidad de interpretar la fisiología y patología de la actividad mímica del hombre en base a resultados experimentales.

El objetivo de la presente Tesis Doctoral ha sido analizar las relaciones morfofuncionales que pre-

senta la organización del complejo nuclear facial, y concretamente hemos procedido al estudio de los siguientes aspectos:

- morfología y topografía general del núcleo facial, detallando las dimensiones, ubicación y relaciones que mantiene con formaciones troncoencefálicas adyacentes.
- delimitación de las subdivisiones que constituyen el núcleo facial con criterios estrictamente morfológicos, y reconstrucción tridimensional del mismo asistida por ordenador.
- disposición del trayecto intraencefálico de las fibras radicales faciales en sus porciones ascendente, horizontal y descendente.
- sistematización musculotópica del complejo nuclear facial por aplicación selectiva de la enzima HRP a nivel de cada uno de los ramos extrapetrosos principales del nervio facial: ramos bucolabiales superior e inferior, ramo cigomático, ramos auriculares anterior y posteriores, y ramo cervical.
- evaluación de parámetros morfométricos (área, perímetro, diámetros) y elementos estructurales que objetiven diferencias entre las distintas poblaciones marcadas, seguida de una valoración estadística.

El desarrollo de estos puntos viene dividido en cuatro grandes apartados que comprenden el estudio

cito- y mielo- arquitectónico del núcleo facial con técnicas histológicas habituales, aplicación del método HRP-neurohistoquímico, estudio morfométrico de las poblaciones marcadas por transporte retrógrado, y reconstrucción gráfica del contorno nuclear mediante recursos informáticos.

La puesta en práctica de dichos métodos ha sido posible gracias a la colaboración entre distintos Centros y nuestro Departamento, mereciendo especial atención la colaboración prestada por el Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid del Profesor Dr. F. REINOSO SUAREZ, durante las primeras etapas de adecuación de la técnica trazadora. El estudio morfométrico se ha efectuado con la asistencia técnica de la Sección de Análisis de Imagen del Servicio de Microscopía de la U. B., y la implementación de algunos programas para la representación de modelos sólidos y la adaptación de las salidas gráficas a los dispositivos correspondientes se ha realizado conjuntamente con la Sección de Gráficos del Centro de Informática de la U. B.

INDICE

TOMO I

INTRODUCCION	1
I. - Generalidades.	
II. - Organización de la sustancia gris troncoencefálica.	
III. - Morfología y topografía del núcleo motor facial.	
IV. - Otros centros relacionados con la inervación de la musculatura facial.	
V. - Trayecto intraencefálico de la raíz motora del nervio facial.	
VI. - Filogenia del núcleo motor facial.	
VII. - Ontogenia del núcleo motor facial.	
VIII. - Sobre la posible decusación de las fibras branquiomotoras faciales.	
IX. - Distribución periférica de las fibras branquiomotoras faciales.	
X. - Subdivisiones morfológicas del núcleo motor facial.	
XI. - Subdivisiones funcionales del núcleo motor facial.	
XII. - Fundamentos de la técnica HRP-neurohistoquímica utilizada.	
MATERIAL Y METODOS	80
Animal experimental.	
Técnica de fijación.	
Métodos cito- y mielo-arquitectónicos.	
Método HRP-neurohistoquímico.	
Análisis morfométrico.	
Método de reconstrucción tridimensional.	

Preparación de soluciones. Tinciones.

OBSERVACIONES	123
I. - Estudio histo-topográfico del núcleo y del trayecto intraencefálico del nervio facial.	
IA. - Disposición y topografía del núcleo - motor facial.	
IA. 1. - Localización.	
IA. 2. - Límites.	
IA. 3. - Dimensiones.	
IA. 4. - Relaciones.	
IB. - Trayecto intraencefálico del nervio - facial.	
IB. 1. - Fibras longitudinales y horizontales.	
IB. 2. - Raíz ascendente.	
IB. 3. - Rodilla.	
IB. 4. - Raíz descendente.	
II. - Estudio citoarquitectónico, citológico y reconstructivo del núcleo facial.	
IIA. - Estudio citoarquitectónico y citológico del núcleo motor facial.	
IIA. 1. - Subdivisiones morfológicas.	
IIA. 2. - Topografía y características citológicas de las subdivisiones.	
IIA. 3. - Diferencias topográficas caudo-craneales.	
IIB. - Reconstrucción tridimensional.	
III. - Estudio HRP-neurohistoquímico y análisis morfométrico.	
IIIA. - Ramo auricular anterior.	
IIIA. 1. - Aplicación de la enzima.	

- IIIA. 2. - Topografía general del marcaje.
- IIIA. 3. - Distribución del marcaje en cuatro niveles caudo-craneales del núcleo facial.
- IIIA. 4. - Características morfológicas.
- IIIA. 5. - Características morfométricas.
- IIIB. - Ramo cigomático.
 - IIIB. 1. - Aplicación de la enzima.
 - IIIB. 2. - Topografía general del marcaje.
 - IIIB. 3. - Distribución del marcaje en cuatro niveles caudocraneales del núcleo facial.
 - IIIB. 4. - Localización ectópica del marcaje.
 - IIIB. 5. - Características morfológicas.
 - IIIB. 6. - Características morfométricas.
- IIIC. - Ramo bucolabial superior.
 - IIIC. 1. - Aplicación de la enzima.
 - IIIC. 2. - Topografía general del marcaje.
 - IIIC. 3. - Distribución del marcaje en cuatro niveles caudo-craneales del núcleo facial.
 - IIIC. 4. - Características morfológicas.
 - IIIC. 5. - Características morfométricas.
- IIID. - Ramo bucolabial inferior.
 - IIID. 1. - Aplicación de la enzima.
 - IIID. 2. - Topografía general del marcaje.
 - IIID. 3. - Distribución del marcaje en cuatro niveles caudo-craneales del núcleo facial.
 - IIID. 4. - Características morfológicas.
 - IIID. 5. - Características morfométricas.
- IIIE. - Ramo cervical.
 - IIIE. 1. - Aplicación de la enzima.

- IIIE. 2. - Topografía general del marcaje.
- IIIE. 3. - Distribución del marcaje en tres niveles caudo-craneales del núcleo facial.
- IIIE. 4. - Características morfológicas.
- IIIE. 5. - Características morfométricas.
- IIIF. - Ramos auriculares posteriores.
 - IIIF. 1. - Aplicación de la enzima.
 - IIIF. 2. - Topografía general del marcaje.
 - IIIF. 3. - Distribución del marcaje en cuatro niveles caudo-craneales del núcleo facial.
 - IIIF. 4. - Características morfológicas.
 - IIIF. 5. - Características morfométricas.
- IIIG. - Morfometría total.

DISCUSION	233
CONCLUSIONES	262
BIBLIOGRAFIA	270

TOMO II

ICONOGRAFIA

- I. - Estudio histo-topográfico del núcleo y del trayecto intraencefálico del nervio facial.
- II. - Estudio citoarquitectónico, citológico y reconstructivo del núcleo facial.
- III. - Estudio HRP-neurohistoquímico y análisis - morfométrico.
 - IIIA. - Ramo auricular anterior.
 - IIIB. - Ramo cigomático.

TOMO III

ICONOGRAFIA (Continuación)

III. - Estudio HRP-neurohistoquímico y análisis -
morfométrico.

IIIC. - Ramo bucolabial superior.

IIID. - Ramo bucolabial inferior.

IIIE. - Ramo cervical.

IIIF. - Ramos auriculares posteriores.

IIIG. - Morfometría total.

INTRODUCCION

I. - GENERALIDADES

En el epílogo de la última revisión del tratado 'Neurological Anatomy in relation to clinical medicine', BRODAL (1981) afirma que el conocimiento de muchos aspectos relacionados con la morfología del sistema nervioso es muy limitado, a pesar de los recientes avances alcanzados en el campo de la Neuroanatomía. Sin embargo, con el progreso de estos estudios parece cada vez más evidente que 'en la organización anatómica del sistema nervioso central existe un grado de orden extremadamente elevado, lo que puede aplicarse incluso a los aspectos estructurales más finos'.

Esta organización neuronal precisa es especialmente manifiesta en ciertas estructuras corticales y mesencefálicas de los vertebrados, entre las que se incluyen algunas áreas isocorticales (S. RAMON Y CAJAL, 1909-1911; J. SZENTAGOTHAÏ, 1975, 1984; O. CREUTZFELDT, 1976; M. A. B. BRAZIER y H. PETSCHÉ, 1978), el hipocampo (S. RAMON Y CAJAL, 1893; R. LORENTE DE NO, 1933, 1934; W. R. SCHWERDTFEGER, 1984), la corteza cerebelosa (S. RAMON Y CAJAL, 1909-1911; J. C. ECCLES y cols., 1967; S. L. PALAY y V. CHAN-PALAY, 1974) y el techo óptico (G. Y. LAZAR y G. Y. SZEKELY, 1967; G. Y. SZEKELY y cols., 1973), cuyos principios arquitectónicos básicos están firmemente establecidos.

La característica común a estas regiones es la estratificación, es decir, la disposición de sus elementos neurales en varias láminas paralelas a la superficie pial. Dicha ordenación afecta a las terminaciones de las fibras aferentes, a la distribución de los somas, a la orientación de las dendritas basilares o apicales de los diferentes tipos - morfológicos y funcionales de neuronas, al trayecto de las fibras intracorticales y comisurales, y a la agrupación de neuronas cuyos axones tienen el mismo destino.

Otro tipo de organización neuronal, menos aparente que el laminar, corresponde al que presentan múltiples agrupaciones nucleares subcorticales. Las precisas conexiones que establece el núcleo dentado del cerebelo con los núcleos talámicos ventral lateral y ventral anterior (O. LARSELL y J. JANSEN, - 1972; V. CHAN-PALAY, 1977) y éstos, a su vez, con las cortezas motora y premotora (L. RISPAL-PADEL, 1976; L. RISPAL-PADEL y cols., 1985); la perfecta sistematización en la terminación del sistema lemniscal medial a nivel del núcleo ventral posterior del tálamo (E. WALKER, 1938; A. BRODAL, 1981); la estrecha relación topográfica que existe entre la distribución de las fibras trepadoras olivocerebelosas y grupos neuronales específicos del complejo olivar inferior (J. COURVILLE y cols., 1980), así como la somatotopía de la proyección septohipocampal ('Functions of the Septohippocampal System', 1978) o córticoestriada (I. GROFOVA, 1979), constituyen algunos ejemplos de la regularidad con que parecen también organizarse los elementos neurales no corticales.

II. - ORGANIZACION DE LA
SUSTANCIA GRIS
TRONCOENCEFALICA

Los estudios comparativos iniciados por la escuela americana de Neuroanatomía a finales del siglo pasado en relación con la organización del tronco del encéfalo, aportaron las primeras pruebas en favor de la sistematización de la sustancia gris troncoencefálica en zonas o columnas longitudinales 'funcionales'.

Según los trabajos clásicos de HIS (1888) sobre material embrionario humano, las paredes laterales del tubo neural constan de dos zonas o placas que lo recorren longitudinalmente en toda su extensión. La placa alar, de situación dorsal, contendría los centros sensoriales primarios, mientras que la placa basal, de posición ventral, poseería carácter motor.

GASKELL (1889), por otra parte, adelantó la hipótesis de que los nervios raquídeos están constituídos por cuatro modalidades de fibras: fibras sómato- y víscero- sensitivas, que alcanzan la médula espinal por las astas posteriores, y fibras sómato- y víscero- motoras, que abandonan la médula a través de las astas anteriores. Cada categoría tiene su origen o terminación en zonas específicas de la sustancia gris medular. Según este autor, los cuatro tipos de fibras indicados también están presentes en los -

nervios craneales, y los grupos neuronales relacionados con cada categoría representan la continuación rostral de las zonas celulares descritas a nivel espinal.

HERRICK (1913) y otros autores posteriores (R. NIEWENHUYNS y cols., 1979) han señalado, sin embargo, que el número de zonas o columnas en el tronco del encéfalo es superior al de la médula, como consecuencia de la aparición de estructuras cefálicas especiales, secundarias al gran desarrollo de los órganos de los sentidos, y han generalizado la concepción de que cada componente de los nervios craneales se distribuye, al entrar en el encéfalo, en una de las siete columnas longitudinales que existen a este nivel. Estas zonas incluyen, en dirección medio-lateral y dorso-ventral, la columna eferente somática general, que inerva la musculatura craneal de origen somático, y contiene los núcleos de origen de los pares XII, VI, IV y III; la columna eferente visceral general, constituida por neuronas parasimpáticas preganglionares de los pares X, IX, VII y III (núcleo motor dorsal del vago, núcleo salivatorio inferior, núcleo salivatorio superior y lácrimo-muco-nasal y núcleo de Edinger Westphal, respectivamente); las columnas aferente visceral general y aferente visceral especial, centros de terminación del fascículo solitario, en el que participan fibras de los pares X, IX y VII; la columna aferente somática especial, con el complejo nuclear vestibular y coclear (VIII); la columna aferente somática general, que representa la continuación craneal del asta posterior medular, y recoge la práctica totalidad de la sensibilidad exteroceptiva y propioceptiva de la

cara a través del nervio trigémino (V); y por último, la columna eferente visceral especial, de localización ventrolateral, que inerva la musculatura estriada derivada de los arcos branquiales, y está constituida por los núcleos ambiguo (XI, X, IX), motor-facial (VII), y motor-trigémino (V).

Además de esta organización columnar de las neuronas aferentes y eferentes primarias de distintas categorías, la aplicación de técnicas degenerativas, y más recientemente de métodos trazadores autorradiográficos y enzimáticos, ha demostrado que gran parte de los centros de origen de los pares craneales muestra una estructuración topográfica específica, relacionada en muchos casos con las subdivisiones citoarquitectónicas propias de cada centro, como se ha comprobado en el sistema oculomotor (R. F. SPENCER y P. STERLING, 1977; J. L. LABANDEIRA GARCIA y cols., 1981), núcleo del nervio hipogloso (T. MIYAZAKI y cols., 1981; G. A. CHIBUZO y J. F. CUMMINGS, 1982; M. F. JACQUIN y cols., 1983), núcleo ambiguo (M. KALIA y M-M. MESULAM, 1980; C. F. L. HINRICHSEN y A. T. RYAN, 1981; S. NOMURA y N. MIZUNO, 1983b; R. PASARO y cols., 1983; J. H. WALLACK y cols., 1983; P. J. DAVIS y B. S. NAIL, - 1984), núcleo accesorio del nervio espinal (M. A. KARIM y S. H. NAH, 1981; S. KITAMURA y A. SAKAI, 1982; M. ULLAH y S. S. SALMAN, 1986), núcleo motor del nervio trigémino (N. MIZUNO y cols., 1975; S. NOMURA y N. MIZUNO, 1983a; J. T. KELLER y cols., 1983; D. SUAREZ QUINTANILLA, 1985) y complejo motor facial, cuya discusión constituye la base de la presente Tesis Doctoral.

III. - MORFOLOGIA Y TOPOGRAFIA
DEL NUCLEO MOTOR FACIAL

El núcleo o complejo motor del nervio facial está constituido por un grupo de neuronas que inerva la musculatura derivada del segundo arco branquial - (arco hioideo), que comprende la totalidad de músculos faciales superficiales y tres músculos profundos: el vientre posterior del músculo digástrico, el músculo estilohioideo, y el músculo estapedio.

DEITERS (1865) ofreció posiblemente la primera referencia a esta masa celular, definiéndola como centro de origen específico del nervio facial, e indicando su independencia respecto al origen del nervio motor ocular externo.

El núcleo facial se localiza en la región ventrolateral de la formación reticular troncoencefálica, entre el bulbo raquídeo y la protuberancia, y forma en algunas especies una pequeña eminencia superficial llamada 'tubérculo facial', caudal al relieve del cuerpo trapezoides (J. W. PAPEZ, 1967).

Es una estructura alargada, de sección circular u oval, cuya longitud alcanza 1.6 mm. en cobayas (J. S. WAY, 1981), 1.7-2.0 mm. en la rata (M. R. MARTIN y D. LODGE, 1977; C. R. R. WATSON y cols., 1982), 2.2 mm.

en el gato (C. Van BUSKIRK, 1945), 3.0 mm. en el perro (G.F. VRAA-JENSEN, 1942), y 3.5-4.0 mm. en el hombre (C. van BUSKIRK, 1945, A. BRODAL, 1981).

Topograficamente se relaciona, por fuera, con la raíz descendente del nervio trigémino, ventralmente con las fibras más caudales del cuerpo trapezoides y del cordón lateral, mientras que sus caras dorsal, medial y lateral están rodeadas por la formación reticular.

En mamíferos inferiores muestra una clara topografía bulbar, a pocos milímetros de la superficie ventrolateral, en contraposición al nivel pónico que ocupa en órdenes más evolucionados. Tales diferencias han sido atribuidas, en parte, al gran desarrollo que adquiere en estas especies la vía auditiva secundaria ventral -cuerpo trapezoides- (S. RAMON y CAJAL, 1909-1911), si bien se ha postulado el efecto de factores neurobiotáxicos sobre la migración, durante el periodo embrionario, de los neuroblastos que darán origen al núcleo facial (A. KAPPERS y cols., 1936; J. SZENTAGOTHAÏ, 1948).

Al núcleo facial se le observa desde un nivel ligeramente craneal al polo superior de la oliva bulbar hasta el plano limitado por el polo inferior del complejo olivar protuberencial, con el que limita dorsomedialmente (E. TABER, 1961; J. ARROYO-GUIJARRQ y cols., 1982).

Su polo caudal se encuentra muy próximo a la porción más craneal del núcleo ambiguo (G. MARINESCO,

1899; M. NISHI, 1965; S. RADPOUR, 1977), porción que recibe la denominación de núcleo retrofacial por la situación dorsal que ocupa (E. TABER, 1961). NISHI (1965), en un estudio comparativo, describe diferencias interespecíficas relativas al grado de extensión caudal del núcleo facial, indicando que su descenso es progresivamente menor en artiodáctilos, roedores y carnívoros, y sólo comprueba relaciones anatómicas entre este centro y el núcleo ambiguo en carnívoros y algunos roedores. Estas observaciones coinciden con las efectuadas por YAGITA (1910) en el perro, y por Van GEHUCHTEN (1906) en conejos.

A consecuencia de la inclinación que presenta el eje principal del núcleo VII, su polo superior no se encuentra en una posición estrictamente vertical, sufriendo un ligero desplazamiento en dirección dorsal y situándose por detrás y por fuera del extremo caudal del complejo olivar superior. En general este polo alcanza el límite inferior del núcleo abducens e incluso en el hombre puede superar su extremidad craneal (G. F. VRAA-JENSEN, 1942; C. Van BUSKIRK, 1945).

IV. - OTROS CENTROS
RELACIONADOS CON LA
INERVACION DE LA
MUSCULATURA FACIAL

Como se indica en las revisiones de PAPEZ (1927) y VRAA-JENSEN (1942), la cuestión de la existencia o inexistencia de centros nerviosos distintos del núcleo motor facial que participen en la inervación de la musculatura facial ha sido ampliamente discutida desde principios de siglo.

El supuesto paso de un contingente de fibras radiculares desde el núcleo del nervio motor ocular externo hacia el nervio facial, cuando su rodilla lo rodea dorsalmente, apoyado por autores de la importancia de MEYNERT, DUVAL, GEGENBAUER, o TESTUT, no ha podido confirmarse en investigaciones posteriores utilizando métodos degenerativos ni técnicas trazadoras.

Tampoco se dispone de pruebas que refuercen la hipótesis de MENDEL (1887) acerca de un segundo origen de las fibras que inervan los músculos de la cara localizado a nivel del núcleo motor ocular común, cuyas neuronas degenerarían, según este autor, tras la extirpación de la musculatura facial superior (músculos frontal y periorbitarios). Los axones procedentes de las neuronas oculomotoras se incorporarían al nervio facial después de un trayecto descendente a través del fascículo longitudinal me-

dial, y su lesión constituiría la base anatómica de la parálisis facial 'superior'.

En 1898, MARINESCO aporta la primera evidencia del origen del facial superior en el seno del núcleo VII, donde halla cambios cromatolíticos después de seccionar los ramos temporales (o ramos auriculares anteriores) en diversas especies. La práctica totalidad de trabajos experimentales efectuados posteriormente comparten la misma conclusión.

Así mismo, en la literatura antigua se describe al núcleo del nervio hipogloso como fuente alternativa de fibras faciales, posiblemente por influencia de la comunicación que CLARKE (1868) observó entre el VII par y las raíces del hipogloso. Para GOWERS - (1888) estas conexiones explicarían la estrecha relación funcional que existe entre las musculaturas labial y lingual.

Otros investigadores han dirigido sus estudios hacia la formación reticular, describiendo dos fuentes de fibras branquiomotoras faciales adicionales.

La primera población neuronal corresponde al núcleo facial dorsal (núcleo facial accesorio o núcleo - VIIa), localizado en el tegmento lateral del bulbo raquídeo o de la protuberancia inferior, aunque no siempre bien circunscrito y diferenciado de la formación reticular adyacente (C. Van BUSKIRK, 1945).

Centro caracterizado por sus grandes neuronas multipolares, histológicamente semejantes a las del nú-

cleo facial principal, se ha descrito en primates, carnívoros, roedores y otros mamíferos (J. SZENTAGOTHAI, 1948; E. TABER, 1961; M. NISHI, 1965; K. MATSUDA y cols., 1979; K. GRANT y cols., 1981; G. SZEKELY y C. MATESZ, 1982; C. R. R. WATSON y cols., 1982; E. SHOHARA y A. SAKAI, 1983).

Como se ha demostrado recientemente con técnicas HRP-neurohitoquímicas, el núcleo VIIa consta de dos grupos celulares: un grupo craneal, de mayor tamaño, y un grupo caudal más pequeño (K. MATSUDA y cols., 1979; K. GRANT y cols., 1981).

- el grupo craneal se observa a lo largo del borde medial de la raíz descendente del nervio facial, por debajo de la subdivisión medial del núcleo motor del trigémino -núcleo retrotrigeminal o trigémino accesorio, Va- con la que ocasionalmente confluye (J. SZENTAGOTHAI, 1948; S. RADPOUR, 1977; G. SZEKELY y C. MATESZ, 1982).
- el grupo caudal, disperso entre las fibras de la raíz ascendente del VII par, es dorsal al tercio superior del núcleo facial principal.

Entre ambos grupos cabe destacar una pequeña población, ventrolateral al núcleo motor ocular externo, cuyas fibras, después de un trayecto dorsomedial a través de la formación reticular, se suman a la raíz del nervio abducens (VI). Este se denomina, por paralelismo, núcleo motor ocular externo accesorio -núcleo VIa-.

La estrecha relación de vecindad que se establece entre los núcleos VIa y VIIa, que comparten una zona de coordenadas cráneocaudal y mediolateral prácticamente idénticas (K. A. HUTSON y cols., 1979), puso en duda durante más de cinco décadas la existencia, en los mamíferos, de un núcleo accesorio del VI par craneal.

En opinión de JACOBSON, ARIENS KAPPERS y otros autores, el centro descrito por HELD, Van GEUCHTEN y RAMON y CAJAL como VIa corresponde en realidad al núcleo accesorio del VII par. Sin embargo, HUTSON y colaboradores (1979) han demostrado inequívocamente la localización e independencia de ambos centros en el mismo animal, por aplicación de la enzima HRP en el extremo proximal del nervio facial de un lado y del nervio motor ocular externo contralateral. El núcleo VIa tiene una posición algo más ventral y lateral que el núcleo homólogo del VII par, así como mayor longitud (0.6 mm. frente a 0.5 mm.) y número de neuronas (120 a 130 y 54 a 64 neuronas en el núcleo VIa del gato y de la rata respectivamente, en contraposición a las 50 y 34 a 38 neuronas del núcleo VIIa en las mismas especies) (G. SZEKELY y C. MATESZ, 1982).

Por otra parte, lesiones electrolíticas emplazadas en la región bulbar correspondiente al núcleo VIIa resultan en una completa degeneración de las placas motoras del vientre posterior del músculo digástrico (J. SZENTAGOTHAÍ, 1948).

Este primer indicio de localización de motoneuronas digástricas posteriores a nivel del núcleo VIIa ha

sido confirmado tanto morfológicamente, mediante inyección de HRP en el espesor del propio músculo o en el cabo proximal del ramo digástrico, (N. MIZUNO y cols., 1975; M. KUME y cols., 1978; K. MATSUDA y cols., 1979; K. GRANT y cols., 1981; K. W. ASHWELL, 1982; C. R. R. WATSON y cols., 1982; C. F. L. HINRICHSEN y C. D. WATSON, 1984; M. KOMIYAMA y cols., 1984), como por estudios electrofisiológicos, registrando la distribución espacial de potenciales secundarios a la estimulación antidrómica del ramo digástrico (E. SHOHARA y A. SAKAI, 1983).

Actualmente se admite que la población digástrica posterior no constituye una unidad morfofuncional aislada, sino que forma parte de una columna longitudinal interpuesta entre la columna oculomotora (núcleos III, IV, VI) y la columna branquiomotora ventrolateral (núcleos V, VII) (K. A. HUTSON y cols., 1979; K. GRANT y cols., 1981; G. SZEKELY y C. MATESZ, 1982). Su división craneal viene representada por el núcleo Va, que contiene neuronas masticatorias para el control del vientre anterior del músculo digástrico y del músculo milohiideo (N. MIZUNO y cols., 1975, 1981; K. MATSUDA y cols., 1978, 1979; S. NOMURA y N. MIZUNO, 1983a; M. F. JACQUIN y cols., 1983). La continuación caudal, formada por el núcleo VIa, da origen a fibras destinadas a los músculos retractores del globo ocular, que participan en el reflejo defensivo corneal de retracción ocular y consiguiente extensión de la membrana nictitante (G. M. POWELL y cols., 1979; J. E. DESMOND y J. W. MOORE, 1982; J. E. DESMOND y cols., 1983; J. A. HARVEY y cols., 1984).

Se desconoce el significado que pueda tener la su-

cesión craneocaudal de los núcleos Va, VIIa y VIa dada su diversidad funcional, siendo sólo evidente la relación de los dos primeros con la masticación.

También se ha demostrado, aunque de forma no concluyente, que el núcleo facial accesorio contiene cierta proporción de motoneuronas que inervan los músculos estapedio (K. W. ASHWELL, 1982) y estilohioideo (E. SHOHARA y A. SAKAI, 1983), otros dos músculos profundos inervados por el nervio facial. La contracción del músculo estapedio modula el grado de tensión de la membrana timpánica. La acción del músculo estilohioideo es sinérgica con la del vientre posterior del músculo digástrico.

Otra fuente de neuronas estapedias es asociada, por utilización de técnicas cromatolíticas, con la región medial del núcleo facial principal (G. F. VRAAJENSEN, 1942; E. BORG, 1973). No obstante, los trabajos más recientes apuntan hacia una representación extranuclear y dispersa alrededor del núcleo VII, en la interfase entre éste y la oliva superior, y en la formación reticular medial a la raíz descendente del nervio facial, cerca de su punto de emergencia (M. J. LYON, 1978; M. D. SHAW y R. BAKER, 1983a).

Contrariamente al núcleo accesorio del VII par, la segunda fuente de fibras branquiomotoras faciales descrita en la formación reticular no está circunscrita a ninguna estructura nuclear específica, tratándose de motoneuronas del mismo tamaño y morfolo-

gía multipolar que las del núcleo VII, distribuidas en el espesor de su raíz (G. F. VRAA-JENSEN, 1942; R. J. CONTRERAS y cols., 1980). Este tipo de neuronas - también se ha observado en el trayecto intrabulbar de algunos pares craneales (M. KALIA y M. M. MESULAM, 1980) y su localización ectópica se ha correlacionado con un error, durante las etapas precoces del desarrollo embrionario, en la migración de neuroblastos desde la zona yuxtaependimaria hasta su posición anterolateral definitiva.

V. - TRAYECTO INTRAENCEFALICO
DE LA RAIZ MOTORA DEL
NERVIO FACIAL

La práctica totalidad de autores y libros de texto consultados coinciden en la descripción del curso que siguen las fibras radicales faciales desde su origen en el núcleo motor facial hasta su salida u origen aparente en la unión bulboprotuberencial (S. W. RANSON y S. L. CLARK, 1956; E. C. CROSBY y cols., 1962; L. TESTUT y A. LATARJET, 1966; J. C. BROWN y B. HOWLETT, 1968; E. PERNKOPFF, 1968; M. L. BARR, 1974; M. B. CARPENTER, 1976; F. ORTS LLORCA, 1977).

Según VRAA-JENSEN (1942) 'estas fibras emergen de la cara dorsomedial del núcleo facial y toman un sentido horizontal hacia el núcleo del nervio abducens (VI), alcanzando su polo inferior por la parte lateral. La raíz VII corre desde este punto y casi horizontalmente hacia el rafe, a lo largo de la superficie dorsal del núcleo VI; asciende luego verticalmente alcanzando el polo craneal del núcleo abducens, y sigue de nuevo un curso horizontal, pero ahora en dirección lateral. Cuando se ha situado en la parte más lateral del núcleo del VI por craneal pasa oblicuamente en dirección ventrolateral hasta su origen aparente, que se encuentra en la zona de transición entre protuberancia y bulbo raquídeo, a nivel del surco lateral posterior...'

El complicado recorrido troncoencefálico del nervio facial, cuyo principio general comparten gran número de vertebrados, y especialmente mamíferos (A. KAPPERS y cols., 1936; M. NISHI, 1965), se sistematiza en tres porciones.

La primera porción o raíz ascendente está constituida por radicales que, después de un curso sinuoso en el espesor del núcleo facial, se incurvan para ganar el borde externo del núcleo (S. RAMON y CAJAL, 1909-1911) y se proyectan en dirección dorsomedial hacia el suelo del cuarto ventrículo. Estas fibras discurren en forma dispersa o agrupadas en pequeños fascículos a través de la formación reticular.

La segunda porción o raíz horizontal, medial al núcleo vestibular medial, lateral a los fascículos vestibuloespinal cruzado y longitudinal medial, y ventral al fascículo dorsal de Schultz (J. W. PAPEZ, 1967), se caracteriza por un cambio brusco de dirección casi perpendicular a la raíz ascendente, que le da el nombre de 'rodilla del nervio facial'. Esta porción delimita, junto con el núcleo del VI par, el relieve del suelo del cuarto ventrículo conocido como 'colliculus facialis' o 'eminencia teres'. La denominación de rodilla interna, que recibe así mismo la segunda porción del nervio facial, no debe confundirse con la de rodilla externa, otra incurvatura del nervio que tiene lugar en el peñasco del hueso temporal, a nivel del ganglio geniculado.

La posición relativa de la rodilla del facial respecto al núcleo motor ocular externo, de gran sig-

nificación anatómica, varía considerablemente de unas especies a otras. NISHI (1965) describe, en preparaciones teñidas con el método de Klüver-Barrera, cinco tipos de relaciones topográficas entre ambas estructuras: medial en el buey; dorsomedial en cobayas, conejos y perros; dorsal en el gato; dorsolateral en la rata; y lateral en el ratón. Para SUGIMOTO y colaboradores (1955) la situación de la rodilla en el gato y en el perro es exactamente opuesta a la descrita, es decir, dorsomedial al núcleo VI en el primer caso y dorsal en el segundo.

Dorsal a la rodilla del VII par se encuentra un pequeño grupo neuronal con intensa actividad colinérgica (representado en las figuras 35C y 45S del Atlas de G. PAXINOS y C. WATSON, 1982) denominado núcleo supragenículado -protuberencial- por OLSZEWSKI y BAXTER (1954). Ocupa la sustancia gris periventricular que rellena propiamente el colículo facial, y se ha identificado con el núcleo salivatorio superior. De este centro partiría la vía ventrolateral 'Y' de BROWN y HOWLETT (J. C. BROWN y B. HOWLETT, 1968) cuyo trayecto más o menos paralelo a las raíces faciales motoras terminaría por confluir en el nervio intermediario de Wrisberg -nervio accesorio del VII (VII bis)-.

Contrariamente a la dispersión propia de las fibras de la raíz ascendente del nervio facial, la tercera porción o raíz descendente consta de tres a cinco fascículos compactos de dirección ventrolateral, mediales al tracto espinal del nervio trigémino y laterales al complejo olivar superior, los cuales se

unen en un tronco único antes de salir por la fosi-
ta lateral del bulbo.

Aunque la mayor parte de fibras de la raíz descen-
dente cabalga por encima del polo craneal del nú-
cleo VI en el momento que abandonan la rodilla, los
estudios de NISHI (1965) en el perro confirman el
paso de algún contingente de fibras a través de su
cara dorsal.

Relaciones del mismo tipo se han observado en mate-
rial humano, entre la raíz ascendente del nervio fa-
cial y el polo caudal del núcleo abducens (A. A. PE-
ARSON, 1947).

Otra particularidad de la raíz descendente, como se-
ñalan KAPPERS y colaboradores (1936), es que su tra-
yecto no queda limitado a un solo plano, sino que -
forma una curva de convexidad inferior llamada 'ro-
dilla ventral'. Esta característica es notable en -
aquellas especies con un núcleo trigémino volumino-
so y un importante desarrollo del cuerpo trapezoi-
des, que desplaza las raíces faciales en sentido -
craneal.

El núcleo motor del trigémino, cuyo polo caudal -
coincide con la máxima depresión de la rodilla ven-
tral, o las neuronas reticulares adyacentes, causa-
rían la deflexión de la raíz descendente VII por -
simple efecto mecánico.

Como ya se ha indicado, la posición del núcleo fa-
cial es caudal (bulbar) en muchos mamíferos subpri-

mates, hecho que condiciona que el punto de emergencia de las fibras branquiomotoras faciales sea craneal al núcleo de origen. Este dato morfológico ha sido interpretado como la conservación en los mamíferos de unas condiciones filogenéticas comunes a los vertebrados inferiores, que serán resumidas posteriormente, y ha sido relacionado con el desarrollo de centros gustatorios que ejercerían influencias neurobiotáxicas sobre el núcleo facial, alejándolo progresivamente de las raíces motoras.

Recordemos que la teoría de la Neurobiotaxis, formulada por ARIENS KAPPERS entre 1908 y 1932 (M. JACOBSON, 1978), explica el fenómeno de la migración neuronal en la dirección de las estructuras de las que reciben las principales aferencias, mediada por la acción de moléculas neurotransmisoras liberadas al espacio sináptico, o por efecto de campos eléctricos.

En este sentido es difícil reconciliar la migración de las motoneuronas faciales de los mamíferos hacia los centros gustatorios bulbares, pues recibe de ellos escasas aferencias (R. NORGREN, 1978; J. B. TRAVERS y R. NORGREN, 1983), y su fuente primaria de proyección es la formación reticular (G. HOLSTEGE y H. G. J. M. KUYPERS, 1977; G. HOLSTEGE y cols., 1977; W. N. PANNETON y G. F. MARTIN, 1983) y el núcleo y tracto espinal del nervio trigémino (M. B. CARPENTER y G. R. HANNA, 1961; W. A. STEWART y R. B. KING, 1963; R. S. ERZURUMLU y H. P. KILLACKEY, 1979).

Tampoco quedaría suficientemente explicada la salida del nervio facial caudal al núcleo del VII par

en algunas aves y craneal en otras (J. M. WILD y R. H. ZEIGLER, 1980).

Por el contrario, la situación caudal del núcleo facial en elasmobranquios y teleósteos (A. KAPPERS, 1929) se correlaciona con su importante columna viscerosensitiva gustatoria, la de mayores dimensiones entre los vertebrados (H. B. SARNAT y M. G. NETSKY, 1974).

Para explicar la compleja asa intraencefálica del nervio facial a nivel del tegmento dorsal se han propuesto argumentos filogenéticos y ontogénicos (J. M. DOMENECH MATEU, 1984), cuyos principios básicos se describen en las dos secciones siguientes.

VI. - FILOGENIA DEL NUCLEO
MOTOR FACIAL

El aspecto más significativo en el desarrollo filogenético del núcleo branquiomotor facial de los vertebrados es su progresivo desplazamiento desde regiones rombencefálicas dorsomediales hacia una localización ventrolateral.

KAPPERS y FORTUYN (1920) y BULLOCK y colaboradores (1977) describen en ciclóstomos, teleósteos (P. G. M. LUITEN, 1976) y anfibios un núcleo VII de posición dorsal, al mismo nivel que la raíz del nervio facial.

Los reptiles representan un grupo transicional, con marcadas diferencias interespecíficas (H. A. BARBASHENRY, 1982). En éstos el núcleo puede estar constituido por una sola masa (J. W. BARNARD, 1936) o estar dividido en dos porciones: ventral y dorsal (A. KAPPERS y cols., 1936). Además del desplazamiento ventral, el núcleo facial de los reptiles sufre un descenso relativo, y es posible identificar el asa intraencefálica que forman las radicales.

En el núcleo VII de las aves también se han descrito dos o tres subdivisiones, grupos ventral, intermedio y dorsal, de localización central o ventrolateral (J. M. WILD y P. H. ZEIGLER, 1980). Sin embargo,

para algunos autores el complejo nuclear facial de las aves difiere del patrón básico del resto de vertebrados, por situarse sobre el plano transversal que pasa por el punto de emergencia de su raíz (R. PEARSON, 1972).

Dentro de los mamíferos, el orden marsupial retiene condiciones aún primitivas, pues el núcleo facial está dividido en un grupo ventral o principal, y un grupo dorsal o accesorio -suprafacial- (J. PROVIS, - 1977; R. M. DOM, 1982), no alcanzando todavía la superficie ventrolateral del bulbo.

En general, los mamíferos más evolucionados se caracterizan por la disposición ventrolateral del núcleo facial, caudal a la salida del nervio, con excepción de los primates, cuyo núcleo y nervio VII se sitúan a la misma altura.

Basándose en estos principios, la aparición de la rodilla facial tiene explicación inmediata. Desde el punto de vista de la Anatomía Comparada, el núcleo motor facial comparte con la columna branquiomotora la emergencia de su raíz por la cara lateral del tallo encefálico. El movimiento ventrolateral y caudal del núcleo VII, más acusado con el avance en la escala filogenética, obliga a una incurvadura del nervio en la parte dorsomedial de la calota, precisamente en aquella región ocupada por el núcleo facial en los vertebrados inferiores, antes de iniciar el proceso migratorio.

Una objeción a la hipótesis filogenética es que deja por resolver la falta de desplazamiento axónico

durante la migración neuronal. Se ha sugerido que el núcleo motor ocular lateral actuaría como punto de fijación de la raíz del nervio facial, factor que puede contribuir, pero no determinar, la formación del asa intraencefálica, como lo demuestra la posición caudal del núcleo VI respecto a la rodilla en algunas formas vertebradas (A. KAPPERS y cols., 1936) e incluso la existencia de ésta en especies que no presentan núcleo abducens.

El factor anclaje se ve cuestionado así mismo por las distintas relaciones topográficas que mantienen la rodilla del VII par y el núcleo VI en los mamíferos, revisadas en la sección anterior.

VII. - ONTOGENIA DEL NUCLEO
MOTOR FACIAL

En las fases precoces del desarrollo embrionario - los elementos motores del rombencéfalo forman una columna celular que se extiende sin interrupción - hasta la médula espinal. En general se acepta que esta columna, ubicada en la porción medial de la - placa basal, por dentro del surco limitante de His, da origen a neuronas eferentes tanto somáticas como branquiales.

Tal organización contrasta con la que presenta el adulto, cuyos núcleos motores somáticos de los pares craneales se sitúan en la vecindad de la pared ventricular, a cierta distancia de la columna eferente branquial.

Estas diferencias han hecho suponer que ambos componentes podrían estar disociados en el espesor de la matriz común.

La concepción más generalizada en Tratados de Anatomía y Embriología localiza el componente branquiomotor lateralmente a la categoría somática (S. W. RANSON y S. L. CLARK, 1956; F. D. ALLAN, 1960; W. J. HAMILTON y cols., 1964; B. I. BALINSKY, 1965; M. AUROUX y P. HAEGEL, 1970; K. L. MOORE, 1973; M. B. CARPENTER, 1976; F. ORTIS LLORCA, 1977; R. G. HARRISON, 1978; J.

LANGMAN, 1981).

Por el contrario TELLO (1922), estudiando la diferenciación neuronal en el embrión de pollo, demuestra que, si bien los neuroblastos branquiomotores y somatomotores proceden de una sola colonia que se desarrolla en contacto con el fascículo longitudinal medial, su relación topográfica es inversa, es decir, los primeros se disponen primitivamente en la zona medial, y los segundos en la zona lateral.

Los trabajos de McALPINE en la rata (1959) corroboran las observaciones de TELLO. Según este autor la placa basal del bulbo raquídeo y de la protuberancia presenta un grado elevado y uniforme de actividad fosfatásica en las etapas tempranas de la ontogenia. Durante el duodécimo día de la gestación se diferencian dos columnas celulares a nivel de la porción medial de la placa basal:

- la población lateral, de mayor reactividad, contiene elementos neurales de los núcleos somatomotores VI y XII.

- la población medial, con actividad fosfatásica más reducida, emite axones que atraviesan la columna adyacente y emergen del tronco cerebral como raíces motoras de los pares craneales V, VII, IX y X. En los días 13 y 15 de la gestación los neuroblastos de esta zona migran en dirección ventrolateral, dando origen a los núcleos motores trigémino, facial y ambiguo.

Los neuroblastos del VII par forman parte de la columna branquiomotora, en continuidad con la superficie medial del núcleo abducens, y abarcan desde el neurómero inmediatamente rostral a éste, hasta su polo inferior. Los axones de los neuroblastos faciales iniciarían su curso hacia la periferia a lo largo de la cara rostral del núcleo VI, mientras que la migración de los somas se efectuaría caudal al mismo, quedando constituida la rodilla interna del nervio facial en la posición definitiva del adulto.

La hipótesis embriológica sobre la génesis de la rodilla del VII par mantiene, por consiguiente, que la zona donde aparece el asa corresponde a la localización dorsomedial primitiva de los neuroblastos faciales, y la formación de la rodilla obedece al desplazamiento migratorio de los somas neuronales, casi perpendicular al crecimiento de sus conos axónicos. El modelo de KEIBEL y MALL (según F. ORTIZ LLORCA, 1977) otorga además un papel activo al núcleo abducens en la incurvación intraencefálica del nervio facial, dado que al estar dispuesto inicialmente por debajo y por fuera del núcleo motor VII, arrastraría las radiculares faciales en su migración craneal.

La introducción de técnicas de marcaje radioactivo en el estudio del tubo neural a finales de la década de los años cincuenta (R. L. SIDMAN, 1970) ha permitido determinar con precisión cuestiones morfológicas relativas a la secuencia temporal de origen

que siguen distintas poblaciones neuronales, sus zonas específicas de procedencia y procesos de migración celular que comportan cambios topográficos regionales.

A partir de estudios de tipo autorradiográfico han derivado conceptos de importancia embriológica. ALTMAN y BAYER (1982) introducen el término de zona citogenética para designar 'un grupo de estructuras encefálicas relacionadas, una estructura simple, o parte de una estructura, que difiere de otras en la misma región por compartir un plan espaciotemporal de neurogénesis'. El concepto de zona citogenética implica que sus componentes derivan de una fuente germinal común, posiblemente una línea celular, o de la llamada 'zona neuroepitelial' correspondiente.

En el rombencéfalo se reconocen dos zonas citogenéticas bien individualizadas (J. ALTMAN y S. BAYER, 1982): la zona VE comprende los núcleos vestibulares, y la zona ME, los núcleos motores trigémino, facial y ambiguo. Se admite que los tres centros branquiomotores, caracterizados por un gradiente citogenético craneocaudal, derivan de una zona neuroepitelial única identificada en la matriz medial de la placa basal.

La manipulación experimental de quimeras ha revelado ser también útil en el estudio de relaciones de linaje celular entre distintas estirpes, durante el desarrollo del sistema nervioso central. Las quimeras se obtienen por agregación de dos embriones de diferente genotipo en estadio de 8 células, seguido

del trasplante a una hembra pseudogestante.

HERRUP y colaboradores (1984) han empleado el producto del locus estructural del gen Gus de ratón, la β -glucuronidasa, como 'marcador bioquímico' de las estirpes celulares que proceden de ambos embriones. Con la fusión de un embrión homocigoto de baja actividad enzimática (Gus^h/Gus^h) y un embrión homocigoto de alta actividad (Gus^b/Gus^b) han determinado que las motoneuronas faciales del ratón adulto derivan de 12 progenitores. Las células descendientes de cada embrión se hallan dispersas por todo el núcleo, y no confluyen en grupos contiguos, ni se distribuyen en cuantos numericamente invariantes. No obstante, la constancia del cociente:

neuronas VII de un genotipo / neuronas totales

parámetro que toma valores múltiples de 0.083, confirma el origen clónico del núcleo VII. En efecto, cuantos del 8.3% es el valor que puede predecirse para poblaciones que deriven de 12 progenitores - ($1/12 = 0.083$).

Otra serie de análisis se han dirigido hacia la secuencia de acontecimientos ontogenéticos que tienen lugar en la evolución del sistema neuromuscular facial, hechos que se conocen con más detalle en el ratón.

TABER PIERCE (1973) señala que los neuroblastos del núcleo VII aparecen entre los días 9 y 10 de la gestación. La etapa de migración no finaliza hasta

los días 15 ó 16, periodo en el que es posible seguir el trayecto del nervio facial desde la placa basal, bajo el neuroepitelio.

ASHWELL y WATSON (1983) detectan actividad acetilcolinesterásica en la musculatura auricular a partir del día 15 pc (post-coitum), lo que interpretan como indicador de la llegada de fibras nerviosas al músculo. En días sucesivos (17-20 pc) se da un desarrollo morfológico gradual en las uniones neuromusculares, con la formación de placas motoras. La constatación de transporte axónico retrógrado de moléculas enzimáticas depositadas en el músculo (HRP exógena) demuestra que estas conexiones también son funcionales.

VIII. - SOBRE LA POSIBLE
DECUSACION DE LAS FIBRAS
BRANQUIMOTORAS FACIALES

El posible paso de radicales motoras al facial - periférico contralateral se ha debatido largamente en los últimos noventa años, por sus implicaciones tanto clínicas como funcionales. De existir dicho trasbase, cabrían explicaciones alternativas a la conservación de la motilidad facial superior (periorbitaria y frontal fundamentalmente) en pacientes hemipléjicos (A. A. PEARSON, 1946).

RAMON y CAJAL (1904, 1909), ZIEHEN (1925) y WINDLE (1933), entre otros, determinan, con modificaciones del procedimiento de Golgi y técnicas argénticas, la decusación parcial a través del rafe del VII par, en especímenes adultos o embrionarios de mamíferos y aves.

En un recién nacido humano anencefálico, PEARSON (1947) estudia el trayecto dorsomedial de cierto número de axones que, aunque se asocian inicialmente al nervio facial del mismo lado, no siguen la vía genicular. A medida que van acercándose al plano medio, pasan a la lámina subependimaria del suelo del cuarto ventrículo. Algunas de estas fibras cruzan el rafe y contribuyen al facial del lado opuesto.

Según NISHI (1965) no se puede asegurar con técni-

cas anatómicas normales que las fibras decusadas - cerca de la rodilla facial en todas las especies - examinadas procedan del núcleo motor VII, por tratarse de una zona de convergencia de vías con orígenes muy diversos.

Estudios efectuados en nuestro Departamento (J. ARROYO-GUIJARRO y cols., 1982) con el método cito- y mielo-arquitectónico de Klüver-Barrera, y con las hematoxilinas de Weil y de Weigert-Pal han permitido distinguir, en perros jóvenes de 35 a 90 días de edad, una decusación craneal de las fibras faciales, en el límite anterior de la rodilla, de otro componente que cruza hacia el lado opuesto a través del fascículo longitudinal medial, antes de acodarse en la extremidad inferior del núcleo abducens.

La extensa revisión de la literatura clásica efectuada por ADDENS (1934) y VRAA-JENSEN (1942) pone de manifiesto diferencias metodológicas que separan a defensores y oponentes de la decusación branquiomotora facial. Los primeros apoyan sus observaciones en la visualización directa de fibras que atraviesan el rafe, en material histológico normal, o identifican en preparaciones de Marchi cambios mielínicos degenerativos contralaterales a la lesión nerviosa periférica. El segundo grupo, entre los que destacan DUVAL, KOLLIKER, Van GEUCHTEN, YAGITA y PAPEZ, se oponen a la decusación basándose en la demostración de cromatolisis exclusivamente homolateral a la ablación del VII par craneal.

Hay que destacar, en la bibliografía consultada, - que tan sólo un grupo de investigadores (J. H. FERGU-

SON y cols., 1977) utiliza una variante de las técnicas argénticas desarrolladas por NAUTA y colaboradores (ej.: técnica de Nauta-Gygax), altamente selectivas para los elementos neurales degenerados - (J. S. DE OLMOS y cols., 1982), a pesar de su implantación como métodos trazadores neuroanatómicos hasta principios de los años setenta, cuando KRISTENSSON y OLSSON (1971a) introducen el procedimiento - HRP-neurohistoquímico.

Desde la aplicación inicial de HRP en el sistema neuromuscular facial por el mismo equipo sueco (K. KRISTENSSON e Y. OLSSON, 1974) hasta los trabajos más recientes (C. F. L. HINRICHSEN y C. D. WATSON, 1984; M. KOMIYAMA y cols., 1984), no se ha obtenido evidencias de marcaje contralateral a la zona de inyección de la enzima.

FERGUSON, COLE y ALLEY (1977) estudian el entrecruzamiento de radicales faciales con enfoque interdisciplinario: degeneración axónica secundaria a la lesión estereotóxica del núcleo facial; reacción - cromatolítica por sección periférica del nervio facial; transporte axónico retrógrado de HRP depositada en el extremo proximal del nervio; e inyección intranuclear de aminoácidos tritiados. Según estos autores las técnicas degenerativas e histoquímicas arrojan resultados negativos, si bien la autorradiografía revela un pequeño componente cruzado, de difícil valoración.

En el estado actual de los conocimientos se debe -

admitir un origen de las fibras calificadas como - axones faciales decusados en centros distintos al núcleo VII contralateral.

La principal fuente de confusión se plantea con el sistema estatoacústico, y especialmente con tres - fascículos que pertenecen a dicho sistema: la raíz vestibular cruzada de Cajal, las fibras decusadas del fascículo vestibuloespinal medial, y el haz olivoclear de Rasmussen.

Las radicales vestibulares cruzadas entran en la protuberancia con el resto de fibras vestibulares - aferentes primarias, entre el cuerpo restiforme - o pedúnculo cerebeloso inferior- y la raíz descendente del trigémino. A diferencia de aquellas últimas, no se detienen y dicotomizan en el complejo VIII - homolateral. Continúan su curso por delante de la rodilla del nervio facial y se distribuyen en los núcleos vestibulares del lado opuesto (J. W. PAPEZ, 1967).

Gran proporción de la vía vestibuloespinal medial, compuesta por fibras vestibulares secundarias, parte del núcleo vestibular medial de Schwalbe, y se incorpora bilateralmente al fascículo longitudinal - medial. La posición externa del núcleo vestibular medial respecto a la rodilla facial condiciona el paso de sus axones en las proximidades de la misma. Luego éstos descienden por el fascículo longitudinal medial hasta niveles mediotorácicos de la médula espinal (R. NYBERG-HANSEN, 1975).

Junto a la vía vestibular descendente cruzada, fi-

bras procedentes de las neuronas del tercio superior del núcleo vestibular medial se decusan en la extremidad craneal del núcleo abducens y ascienden por el fascículo longitudinal medial. Constituyen la proyección vestibulo-oculomotora (E. TARLOV, 1975) que sinapsa con la columna eferente para la musculatura extrínseca ocular contralateral (III, IV, y VI pares craneales), y también de la homolateral, - después de una segunda decusación a través del rafe medio.

El entrecruzamiento dorsal de los tractos vestibulares primarios y secundarios, descritos en especímenes adultos, se ha observado sin dificultad en embriones de pollo y de mamíferos, en los que forman fascículos compactos que cruzan la línea media entre ambas rodillas faciales, bajo el suelo del IV ventrículo (J. L. ADDENS, 1934; R. F. SHANER, 1934).

El haz olivococlear, otro contingente de fibras que confluye en la región de la rodilla facial, corresponde al fascículo eferente (motor) asociado al aparato auditivo, y es fracción fundamental del sistema de fibras conocido clásicamente por pedúnculo olivar de Bechterew. Diversos autores coinciden en señalar que la decusación de este haz es frecuentemente interpretada como decusación de algunos axones faciales.

Como demostró PAPEZ (1930) el pedúnculo olivar se origina en regiones específicas del complejo olivar superior, y tras recorrer la calota homolateral, continúa en el lado opuesto en íntima relación con las

fibras vestibulares primarias. Sin embargo, fué incapaz de seguir la degeneración axónica de su trayecto intraprotuberencial más allá de la cara anterior del núcleo coclear, entre el núcleo y el nervio vestibular. PAPEZ reconoció el carácter eferente a la oliva pónica, pero desconocía el verdadero significado funcional de la vía peduncular.

La descripción pormenorizada, y la selección del término 'olivococlear' se debe a RASMUSSEN (1946), quien atribuyó el origen del fascículo a una población multipolar de tipo eferente visceral, localizada medialmente a la oliva superior accesoria y dorsal al núcleo del cuerpo trapezoides. Sus axones toman una dirección dorsal y constituyen el brazo directo ('no-cruzado') del pedúnculo. Este haz, inicialmente disperso, converge cerca de la cara ventral del asa del nervio facial. Al atravesar el rafe se continúa con la porción 'cruzada' del pedúnculo, siguiendo un curso paralelo a las fibras radiculares vestibulares, por detrás de la raíz descendente del trigémino.

Las fibras olivococleares abandonan el sistema nervioso entre las divisiones del nervio vestibular y las raíces dorsales del nervio intermediario (VII bis). En la perifería, y después del trayecto en la división vestibular inferior del VIII par, utiliza la anastómosis vestibulo-coclear de Oort para alcanzar el territorio de distribución.

Investigaciones posteriores apoyan esta descripción ya clásica del haz olivococlear, cuya disposición ha sido reconstruída a partir de secciones tratadas -

por el método de Koelle-Lewis para detectar estructuras colinérgicas (J. C. BROWN y B. HOWLETT, 1968), - aunque empieza a darse mayor importancia al componente ipsilateral, que podría proporcionar hasta el 60% de fibras según las estimaciones de WARR (1980)

ADDENS (1934) concluye su revisión sobre la decusación branquiomotora facial negando la presencia de fibras faciales decusadas de carácter motor o - sensitivo en la raíz del séptimo par. Considerando los cambios degenerativos bilaterales observados - por KOHNSTAMM, secundarios a la sección de la cuerda timpánica en el perro, propone que los axones decusados son visceromotores, y concretamente fibras salivatorias superiores. Esta posibilidad no se ha - confirmado en los últimos trabajos experimentales con inyecciones múltiples de HRP en las glándulas submandibular y sublingual del perro (G. A. CHIBUZO y J. F. CUMMINGS, 1980), ni por incubación de la cuerda del tímpano con cristales o soluciones de la enzima, en la rata (R. J. CONTRERAS y cols., 1980; J. E. NICHOLSON y C. M. SEVERIN, 1981), en la cobaya (J. S. WAY, 1981), ni en el gato (H. SATOMI y cols., 1979; S. NOMURA y N. MIZUNO, 1981).

PERWAIZ y KARIM (1982) comprueban, sin embargo, el origen bilateral, con claro predominio homolateral, de los ramos que inervan la glándula submandibular en primates. Estos resultados contrastan con los - obtenidos en mamíferos inferiores y se explicarían por diferencias evolutivas del sistema secretomotor facial.

Por otra parte, el complejo trayecto de las fibras salivatorias superiores en la vecindad de la rodilla del nervio facial puede ser también causa de error en la interpretación de la decusación branquiomotora facial.

NOMURA y MIZUNO (1981) describen el curso central de los axones de las neuronas eferentes de la cuerda del tímpano corriendo dorsomedialmente hacia la región lateral de la rodilla del nervio facial. Algunas fibras alcanzan la zona próxima al rafe, sin que ninguna se haga contralateral. Las fibras secretomotoras forman una pequeña rodilla en la región medial del asa del VII par. Sucesivamente adquieren una dirección lateral y ventrolateral, para unirse a otros componentes de la cuerda del tímpano en la superficie dorsal del tracto espinal del trigémino.

La técnica de precipitación de sulfuro de cobalto, utilizada inicialmente en el estudio del sistema nervioso de invertebrados y adaptada con posterioridad al de vertebrados (P. M. FULLER y D. J. PRIOR, 1975; C. A. MASON, 1975; C. A. MASON y cols., 1977), ha resultado ser óptima en el análisis morfológico del trayecto intraencefálico del VII par craneal, aportando información adicional relativa a la posible decusación de dicho nervio. Aplicando cloruro de cobalto por inyección iontoforética en el cabo proximal de las raíces del nervio facial y del nervio intermediario, y tras un tratamiento con sulfuro amónico que determina la precipitación de un compuesto negro insoluble (N. M. TYRER y E. M. BELL, 1974; H. WASSLE y K. HAUSEN, 1981), MARTIN y MASON (1977)

observan, aparte del curso habitual de las fibras branquiomotoras faciales en la raíz ascendente ('mot-1'), rodilla y raíz descendente ('mot-2'), tres categorías de fibras que denominan: tipo I, tipo II y tipo III. Las fibras tipo I y II constituyen un haz rostromedial de trayecto paralelo al último tramo de la raíz eferente hasta un punto próximo a la rodilla, donde haz y raíz convergen. El pequeño haz rostromedial abandona el tracto principal pasando ventral y dorsal a la rodilla facial. Las fibras tipo III atraviesan el tallo encefálico en otro fascículo individual, caudolateral a la raíz descendente del VII par.

La disposición que caracteriza a estas fibras es la siguiente:

- fibras tipo I: se proyectan ventralmente a la rodilla facial hacia la línea media, por debajo del límite ependimario del cuarto ventrículo. A este nivel giran 90° en sentido ventral. Recorren 400-600 μm en el rafe y se adentran hacia la formación reticular homolateral.
- fibras tipo II: viajan por una distancia variable en dirección al suelo ventricular antes de girar 180° en el plano coronal, volviendo de nuevo a la rodilla principal.
- fibras tipo III: son fibras del haz caudolateral que se extienden de forma dispersa en la formación reticular lateral. Se unen a la raíz descendente y pasan ventrales a la ro-

dilla, haciendo un típico bucle yuxtaventricular.

Las fibras tipo I y II son, en parte, viscerales generales, es decir, lácrimo-salivatorias, aunque no ha podido precisarse su carácter aferente o eferente. Las fibras tipo III representan con toda probabilidad eferencias viscerales especiales para la musculatura facial profunda. Ninguno de los tres tipos de fibras descritos cruza el rafe, y permanecen siempre homolaterales a su origen.

IX. - DISTRIBUCION PERIFERICA
DE LAS FIBRAS BRANQUIO-
MOTORAS FACIALES

Las fibras radicales branquiomotoras faciales - emergen del encéfalo por encima del límite rostral del cuerpo trapezoides. Acompañan al VIII par durante un corto trayecto hasta el fondo del conducto auditivo interno, y divergen del componente estatoacústico introduciéndose en el acueducto de Falopio. Este conducto, excavado en el espesor de la porción petromastoidea del hueso temporal, presenta una complicada disposición en la que se describen: una primera porción perpendicular al eje principal del peñasco, que termina en un codo o rodilla donde se aloja el ganglio geniculado; una segunda porción de dirección dorsal y lateral, paralela al eje del peñasco; y una última porción vertical que comunica con la base del cráneo a través del orificio estilomastoideo.

En el acueducto de Falopio se desprende un pequeño ramo de la superficie dorsomedial del nervio facial antes de alcanzar su segundo recodo, destinado al músculo estapedio.

La Figura I muestra esquemáticamente la topografía de los ramos terminales del nervio facial en el perro.

Los ramos auriculares posteriores (r. VI), habitualmente en número de dos, se individualizan del tronco del facial en el último segmento intrapetroso, y lo abandonan definitivamente a nivel del orificio estilomastoideo. Adquieren entonces un curso caudal y dorsal, distribuyéndose por la musculatura retroauricular. Suelen ir asociados a tres ramos sensitivos, los nervios auriculares internos caudal (raic), medio (raim) y lateral (rail), cuyos territorios cutáneos de inervación se extienden por la cara cóncava del pabellón (L. R. WHALEN y R. L. KITCHELL, 1983a, 1983b).

El nervio facial, una vez se ha hecho exocraneal, efectúa una incurvación alrededor del cartílago auricular y se divide en la profundidad de la glándula parótida, después de dar los nervios digástrico (rdg) y estilohiideo (reh) para la musculatura facial profunda, en tres troncos primarios: el tronco auriculopalpebral, el ramo bucolabial superior y el ramo bucolabial inferior (E. HUBER y W. HUGHSON, 1926; E. MILLER y cols., 1964).

El tronco auriculopalpebral sigue el trayecto más dorsal y se divide a 10-15 mm. de su origen en los ramos auricular anterior o temporal (r. I) y cigomático o palpebral (r. II). El primero asciende por delante del pabellón auricular y sus ramificaciones más rostrales se anastomosan ampliamente con el ramo cigomático, constituyendo el plexo auricular anterior. Este ramo inerva la musculatura preauricular y frontal. El ramo cigomático sigue un curso paralelo al arco cigomático, distribuyéndose por la

musculatura orbicular ocular y nasolabial.

Los ramos bucolabial superior (r. III) e inferior (r. IV) discurren sobre el músculo masetero y pasan respectivamente dorsal y ventral en relación al conducto de Stenon. También establecen múltiples anastómosis entre sí, y forman un plexo, caudal a la comisura de los labios, del que parten numerosos fascículos nerviosos para la musculatura peribucal. El ramo cervical (r. V) es un delgado nervio dirigido ventralmente que se origina a partir del ramo bucolabial inferior, y va aplicado contra la superficie externa de la glándula mandibular. Inerva parte de la musculatura cutánea del cuello.

El patrón de ramificaciones descrito es compartido, con algunas particularidades, por el resto de mamíferos. Las variaciones filogenéticas más importantes que se presentan en relación a este patrón general vienen determinadas por dos corrientes evolutivas. De una parte, se da un número creciente de anastómosis entre las ramificaciones terminales de los distintos ramos del nervio facial con la diferenciación progresiva de la musculatura mímica, alcanzando en el hombre la máxima expresión. El segundo proceso evolutivo corresponde a la dicotomización de los ramos periféricos principales del nervio facial. Ya se ha descrito la subdivisión del ramo más dorsal, el tronco aurículopalpebral, en un ramo auricular anterior y otro cigomático. En cuanto a las ramas más ventrales es posible reconocer, por ejemplo en los roedores, la duplicación del ramo que inerva la musculatura labial inferior en un ramo bucolabial

inferior y un ramo marginal mandibular. En otros mamíferos (Ovibos, Cavia, Orycteropus) el platisma cervical está inervado por los ramos cervical y platisma superficial (R. SABAN, 1971).

Desde el punto de vista de la Anatomía Comparada - viene admitiéndose que la masa muscular primitiva del arco hioideo se diferencia en tres láminas superpuestas, de las que proceden todos los músculos faciales superficiales (E. HUBER, 1925, 1931). Son el sphincter colli superficialis, el platysma y el sphincter colli profundus. En el perro pueden persistir vestigios del sphincter colli superficialis a nivel de la región laríngea, donde suelen encontrarse algunas fibras transversales dispersas. La práctica totalidad de su musculatura facial deriva, por consiguiente, de las dos capas profundas (H. HUBER y W. HUGHSON, 1926; G. F. VRAA-JENSEN, 1942; E. MILLER y cols., 1964).

Las Figuras II y III muestran la disposición definitiva de los músculos faciales del perro en dos planos anatómicos sucesivos.

El platysma es una lámina longitudinal que se dispone originalmente entre los dos esfínteres, y da origen al músculo platisma o cutáneo del cuello (M. platysma colli) y al grupo retroauricular, el cual incluye un gran número de pequeños músculos bien individualizados que forman en conjunto el complejo muscular cervicoauricular (ej: M. cervicoscutularis,

M. cervicoauricularis superficialis, Mm. cervicoauriculares profundi, M. parietoscutularis, M. parietoauricularis...), la musculatura dorsal de la concha (Mm. obliqui et transversi auriculae) y el músculo mandibuloauricular (M. mandibuloauricularis).

La inervación de los músculos derivados del platysma depende fundamentalmente de los ramos auriculares posteriores, que se encargan de la motilidad de la musculatura retroauricular, y del ramo cervical, destinado a la musculatura cutánea del cuello.

Por su parte, el sphincter colli profundus se divide, en sentido caudo-rostral, en cuatro porciones:

- porción auricular (pars auricularis)
- porción intermedia (pars intermedia)
- porción palpebral (pars palpebralis)
- porción oral (pars oralis)

Las porciones auricular y palpebral apenas tienen representación en el perro, aunque cabe una posible relación entre la porción auricular y el origen del músculo depresor auricular (M. parotidoauricularis) (E. MILLER y cols., 1964).

De la porción intermedia del sphincter colli profundus deriva el importante complejo órbito-frontoauricular, que comprende los músculos frontal (M. frontalis), auriculares rostrales (Mm. scutuloauriculares superficiales et profundi), interescutular (M. interscutularis), ciertos músculos auriculares intrínsecos (M. trago-helicinus, M. trago-tubo-helici-

mus, *M. conchohelicinus*). la musculatura periorbitaria (*M. orbicularis oculi*, *M. retractor anguli oculi lateralis*, *M. levator anguli oculi medialis*) y los músculos elevador nasolabial (*M. levator nasolabialis*) y cigomático (*M. zygomaticus*).

Los músculos faciales restantes, es decir, aquellos que se disponen alrededor de las cavidades oral y nasal, y entre los que se hallan el músculo orbicular de los labios (*M. orbicularis oris*), los músculos incisivos (*Mm. incisivus superior et inferior*), el músculo buccinatorio (*M. buccinatorius*) y la lámina muscular maxilonasolabial (*M. maxillonasolabialis*), se diferencian de la porción oral del *sphincter colli profundus*.

El *sphincter colli profundus* y sus derivados están inervados por las otras cuatro ramas extrapetrosas del nervio facial, ramos auricular anterior, cigomático, y bucolabiales superior e inferior. Específicamente, los dos primeros inervan los músculos derivados de la porción intermedia, mientras que los ramos bucolabiales inervan la musculatura que se diferencia a partir de la pars oralis del *sphincter colli profundus*. El ramo cervical también participa parcialmente en la inervación de esta lámina profunda, y del *sphincter colli superficialis*.

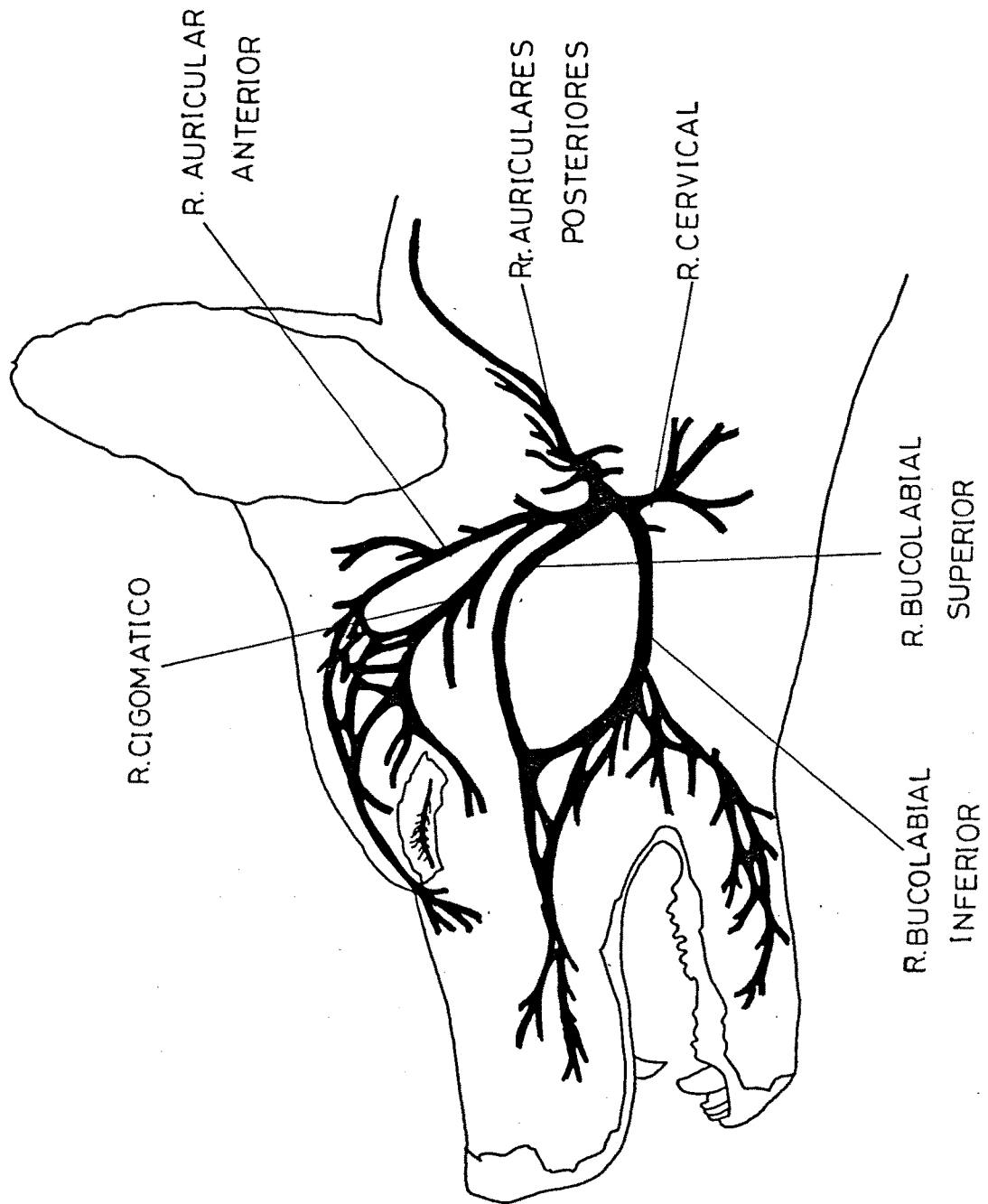


FIG. 1

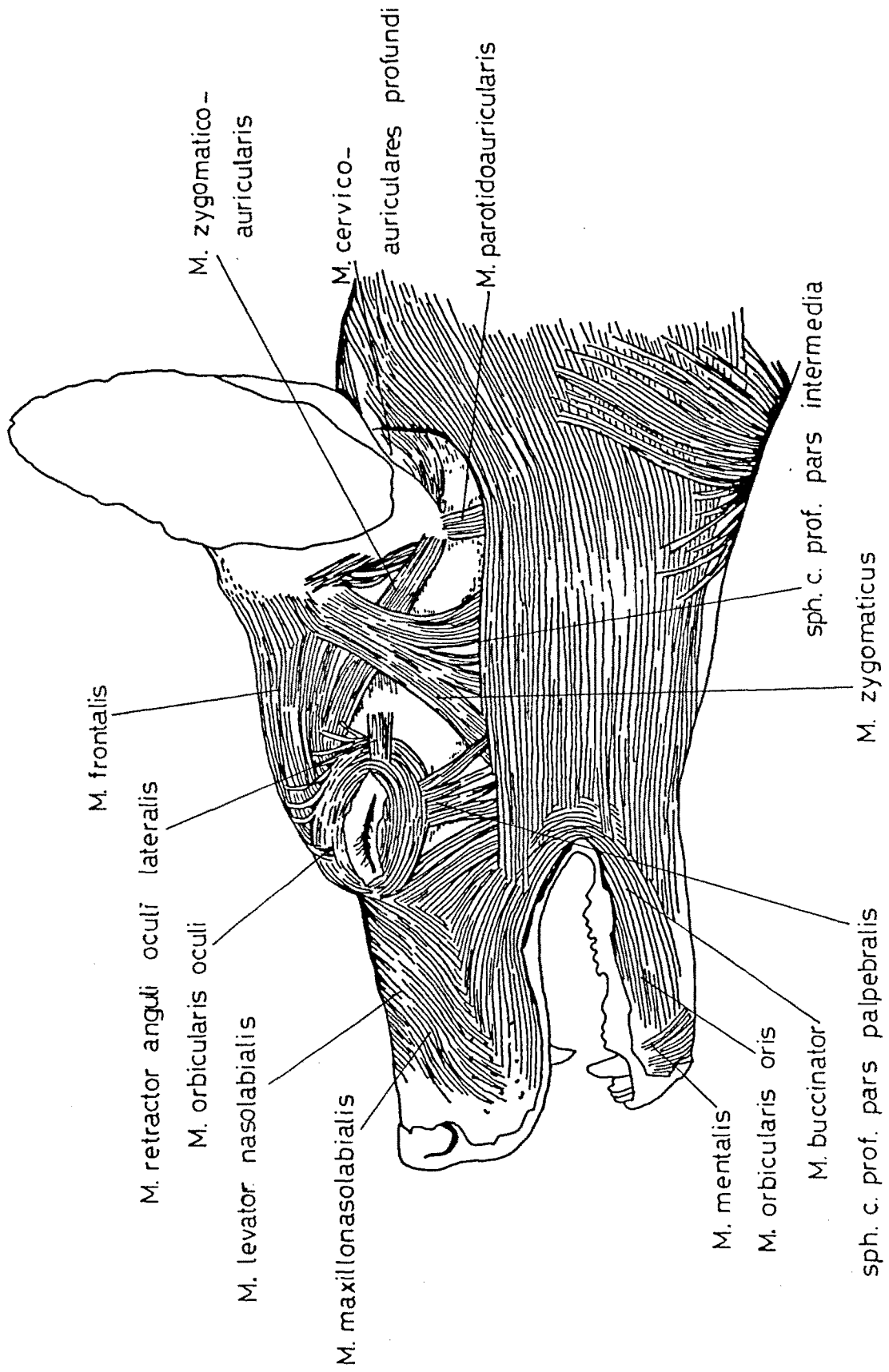


FIG. II

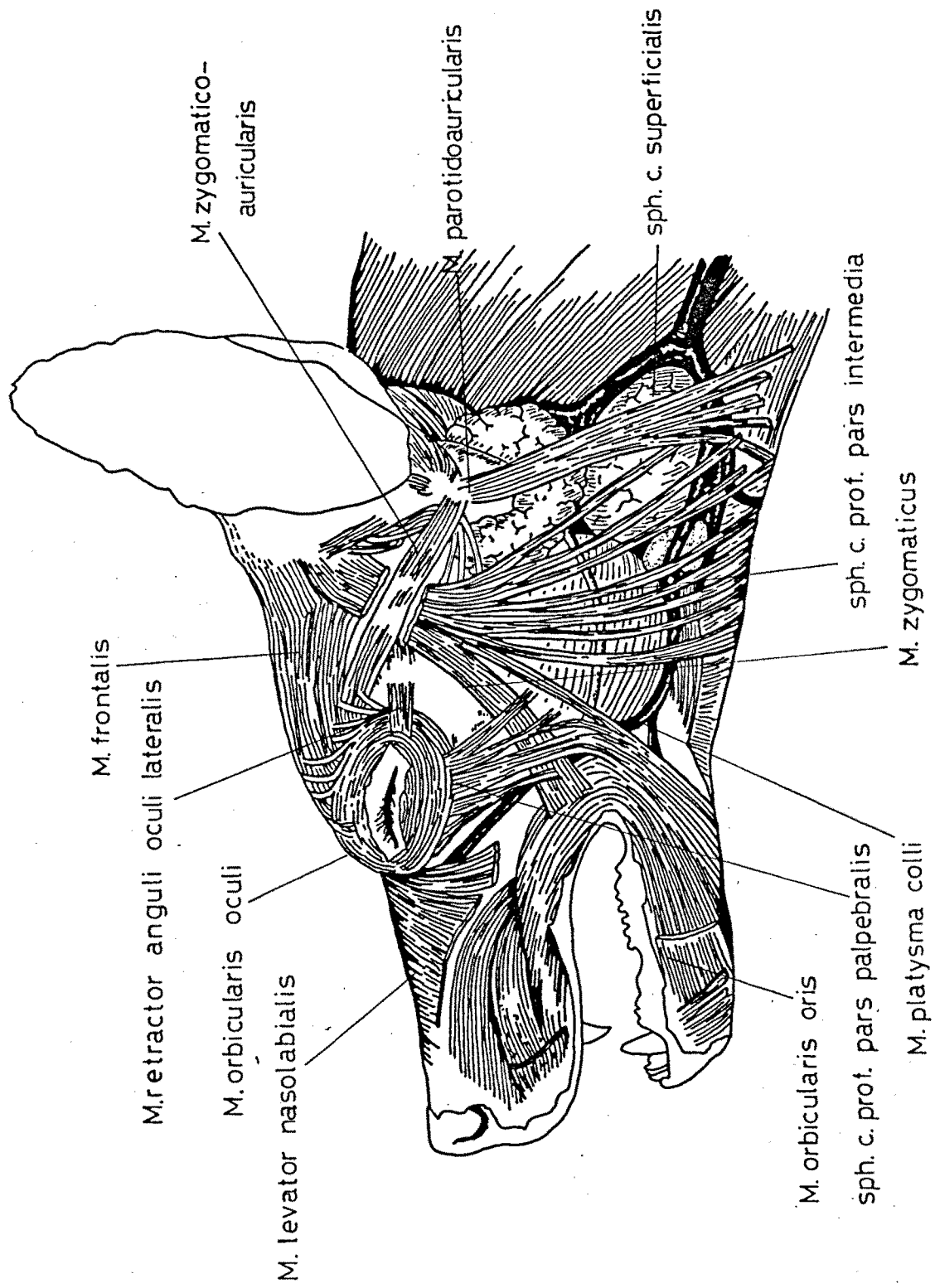


FIG. III

X. - SUBDIVISIONES
MORFOLOGICAS
DEL NUCLEO MOTOR FACIAL

Los elementos neurales que configuran el núcleo motor facial, somas, prolongaciones dendríticas, segmentos axónicos proximales y fascículos aferentes, no tienen una distribución uniforme en el espesor del núcleo. Dicha heterogeneidad estructural permite reconocer en el núcleo VII, a partir de material histológico tratado fundamentalmente con los métodos de Nissl y Weigert, varios agregados neuronales que están separados entre sí por zonas de sustancia blanca y de escasa celularidad.

En base a este criterio de 'agregación neuronal', HUGUENIN, y posteriormente KOLLIKER (1896) y TESTUT (1897), describen una división del núcleo facial - principal en dos grupos: dorsal y ventral (ver la revisión histórica de VRAA-JENSEN, 1942).

Los estudios más detallados de MARINESCO (1899) - distinguen en el complejo nuclear facial del conejo las regiones superior, central e inferior. Las dos divisiones extremas, superior e inferior, están constituidas por grupos morfológicos bien circunscritos. La región central se divide a su vez en tres grupos, externo, intermedio e interno, de los cuales los grupos intermedio y externo presentan una segmentación ántero-posterior.

Van GEHUCHTEN (1906) adopta un modelo de división del núcleo del séptimo par más simple que el de MARINESCO. Distingue, al igual que HUGUENIN, un grupo dorsal y otro ventral. Este último, sin embargo, parece subdividido en los grupos externo, medio, e interno.

A niveles medios del núcleo facial, YAGITA (1910) observa en el perro seis divisiones citoarquitectónicas agrupadas en tres regiones. La región ventral comprende los grupos lateral-ventral, mediano-ventral y medial-ventral. Los grupos lateral-dorsal y medial-dorsal forman parte de la región dorsal. Separando ambas regiones, y específicamente entre los dos grupos mediales se dispone la región intermedia, que consta de un único grupo: el grupo intermedio. La división intermedia es muy característica del perro y de mayor tamaño que en el hombre.

Con la finalidad de simplificar y estandarizar criterios, PAPEZ (1927, 1967) propone un modelo general que resume el plan de organización del núcleo facial en los mamíferos. De las investigaciones de este autor deriva una subdivisión en seis zonas o columnas celulares de disposición longitudinal: medial, dorsal, lateral, intermedia, ventromedial y ventrolateral, cuya importancia y topografía depende de la especie considerada:

1. - Los marsupiales (zarigüeya) se incluyen entre las especies con una organización nuclear más primitiva e indiferenciada. En éstos cabe distinguir

un grupo medial, un grupo dorsal y una lámina en forma de 'N' cuyo segmento ascendente corresponde a los grupos ventromedial e intermedio. El segundo tramo de la 'N' está representado por la división ventrolateral, continuándose externamente con la masa lateral.

2. - En los roedores (rata, ratón, cobaya), el patrón marsupial evoluciona en el sentido de un mayor grado de diferenciación. Aunque los núcleos ventromedial, intermedio y ventrolateral conservan en parte puentes celulares de unión, se empieza a comprobar la individualización de las seis columnas.

3. - En el núcleo facial de los carnívoros, y concretamente en el del gato, las seis subdivisiones celulares son totalmente independientes:

- el grupo medial, población importante y voluminosa, está separado del grupo intermedio por una profunda hendidura.
- las células algo dispersas del grupo dorsal ocupan el surco limitado por la superficie ventromedial de la columna lateral, y por la cara dorsolateral de la columna intermedia. La confluencia ocasional de las neuronas de este grupo con las masas celulares vecinas puede dificultar su delimitación exacta.
- el grupo lateral es una columna de neuronas de mediano tamaño. A diferencia de los roedores, se mantiene aislado del grupo ventrolateral, si bien se comprueban zonas de con-

fluencia entre ambos, y con el grupo dorsal.

- la irregularidad del contorno anterior del grupo ventrolateral coincide con el paso a ese nivel de haces oblicuos de fibras arqueadas. Es una columna de pequeñas dimensiones en la que persiste alguna comunicación con el segmento lateral de la lámina intermedia. Esta separación incompleta es un vestigio, según PAPEZ, del origen común de los grupos ventrolateral, intermedio y lateral.

- el grupo ventromedial es una columna celular delgada pero continúa en toda la extensión rostro-caudal del núcleo. Situado junto a la división ventrolateral, en la parte anterior del núcleo VII, invade la incisura que existe entre los grupos medial e intermedio. Parece derivar, asimismo, de la masa intermedia.

- por último, el grupo intermedio es una columna de sección oval, de eje mayor ánteroposterior, inmerso en el centro del núcleo. Sus vínculos con las poblaciones ventral y lateral recuerdan la lámina intermedia de la rata, independientemente de que el núcleo facial del gato presente la máxima diferenciación morfológica dentro de las especies mencionadas.

4.- La configuración nuclear facial del perro difiere en varios aspectos del modelo descrito en otras especies. En primer lugar, hay una ausencia aparente del grupo dorsal, y ello le confiere el -

aplanamiento característico del núcleo en sentido dorso-ventral. Esta subdivisión aparece como una banda de grandes células aplicada contra la superficie dorsal del grupo intermedio. En segundo término, el grupo medial tiene mayor longitud que en ratas y gatos. También muestra una estrangulación en la transición del tercio ventral con los dos tercios posteriores, la cual divide al grupo en dos porciones: ventral y dorsal. Además, en el perro se da una constante fusión de la columna lateral con la población ventrolateral, al igual que frecuentes grupos transicionales que conectan las subdivisiones ventromedial e intermedia.

VRAA-JENSEN (1942) concluye en su Tesis experimental que 'el núcleo facial del perro es divisible en tres grupos principales, una pars lateralis, una pars intermedia, y una pars medialis. Estos grupos están claramente separados entre sí. Tal afirmación no se aplica, sin embargo, a las tres porciones en las que puede dividirse a su vez la pars medialis, esto es, la pars ventromedialis, la pars mediomedialis y la pars dorsomedialis'.

La organización que plantea VRAA-JENSEN no difiere sustancialmente de las subdivisiones morfológicas indicadas por YAGITA. Los grupos dorsomedial, medio-medial, ventromedial e intermedio del primero se corresponden respectivamente con los grupos medio-dorsal, intermedio, medio-ventral y lateral-dorsal del segundo. En contraposición VRAA-JENSEN considera que la masa lateral es única, y YAGITA la divide en los grupos lateral-ventral y mediano-ventral.

A pesar de los diferentes términos utilizados por los dos últimos autores frente a la clasificación de PAPEZ, el examen detenido de la orientación y características celulares descritas en cada grupo neuronal facilita equivalencias entre las tres nomenclaturas. Así, los grupos lateral y ventrolateral de PAPEZ son homólogos a los grupos lateral-ventral y mediano-ventral de YAGITA; y la pars dorsalis del grupo medial, su pars ventralis, y el grupo ventromedial del mismo autor lo son de los grupos dorso-medial, mediomedial y ventromedial de VRAA-JENSEN. El grupo intermedio, considerado conjuntamente con el dorsal, ocupa idéntica posición que la división intermedia de VRAA-JENSEN.

Van BUSKIRK (1945) aplica la terminología de PAPEZ en un estudio cuantitativo efectuado sobre el núcleo facial del gato, del perro y del hombre. Por su interés, revisaremos las características más significativas de este estudio en relación al núcleo motor VII del perro:

- el grupo medial es la columna con mayor extensión en sentido craneal, disponiéndose inmediatamente dorsal al polo inferior de la oliva pónica. Presenta células de tipo motor con diámetros comprendidos entre 20 y 50 μm . Es el grupo de más celularidad, y aunque posee neuronas de mediano y gran tamaño, se calcula en dos tercios su contenido en células pequeñas. Estas tienen una preferencia dorsal.

- la presencia del grupo dorsal es inconstante. Muestra frecuentes conexiones con los grupos intermedio y lateral, y consta de células de tamaño medio. Se prolonga en dirección caudal de forma que, fundiéndose con el grupo lateral, constituye el polo inferior del núcleo.

- las relaciones topográficas de los grupos - intermedio, ventromedial y ventrolateral son similares a las ya descritas en el gato, estando formadas por células grandes.

- el grupo lateral, de posición externa y posterior, contiene neuronas de mediano y gran tamaño distribuidas prácticamente en toda la longitud del núcleo facial.

En el análisis de los grupos celulares del tronco del encéfalo del gato TABER (1961) refiere, sin entrar en detalles, seis poblaciones neuronales en el núcleo principal del nervio facial: dorsal, intermedia, medial, ventromedial, ventral y ventrolateral. Estas poblaciones no están perfectamente delimitadas a consecuencia de los puentes celulares que conectan los distintos grupos. Las células predominantes son grandes o medianas, de morfología multipolar e intensa cromofilia.

Para NISHI (1965) 'el núcleo facial se divide generalmente (en los mamíferos), en varios grupos... La

disposición de estos grupos no es idéntica en todas las especies estudiadas. Está compuesto por los grupos medial, dorsal, ventrolateral y dorsal en el ratón y en la rata; por los grupos ventromedial, ventrolateral y dorsal en la cobaya; y por los grupos medial, lateral e intermedio en el conejo. En artiodáctilos, el núcleo consta de los grupos medial, dorsal y ventral. En los carnívoros, el núcleo queda dividido en cinco grupos: medial, dorsal, lateral, intermedio y ventral, propios del gato y del perro. En el gato, el grupo ventral comprende a su vez dos grupos: ventromedial y ventrolateral. En el perro, el grupo lateral se subdivide ocasionalmente en los grupos dorsolateral y ventrolateral'.

COURVILLE (1966b) considera solamente cuatro subdivisiones en el núcleo VII de gatos recién nacidos, a las que denomina dorsomedial, ventromedial, intermedia y lateral:

- en el grupo intermedio se observan neuronas dispersas de gran calibre, entre las cuales pueden descubrirse algunas células de tamaño medio.
- el grupo dorsomedial es una población más densa que el anterior, y con células preferentemente medianas y pequeñas. En secciones coronales practicadas a nivel medio del núcleo facial, esta subdivisión se presenta en todo su curso cráneo-caudal.
- un amplio espacio pobre en elementos celulares.

res separa al grupo dorsomedial de la columna lateral. En la composición de esta última se encuentran neuronas de tamaño muy variable.

- las regiones más ventrales del núcleo están ocupadas por un grupo ventromedial que mantiene conexiones, en distintos puntos, con el grupo dorsomedial. Sus neuronas son de mediano tamaño.

PROVIS (1977), en su estudio anatómico del núcleo facial en marsupiales, revela cinco subdivisiones bien diferenciadas, que se agrupan en una zona medial, una zona lateral y una zona intermedia. Las zonas medial y lateral contienen masas celulares individuales, los grupos medial y lateral respectivamente. El área intermedia, interpuesta entre las otras dos, se subdivide dorsoventralmente en los grupos dorsal intermedio, medio intermedio y ventral intermedio.

En cuanto a la longitud de las cuatro columnas celulares, las secciones más caudales comprometen a los subnúcleos medial y lateral, mientras que el polo craneal del núcleo VII está representado en estos mamíferos por los grupos medial, dorsal intermedio y lateral. El tamaño neuronal medio varía en el rango de 15 a 40 $\mu\text{m.}$, sin que la distribución de diámetros muestre diferencias significativas en los distintos subnúcleos.

El núcleo facial de la rata ha sido también objeto de recientes descripciones morfológicas. MARTIN y LODGE (1977) lo dividen en cinco columnas rostro-caudales: medial, ventromedial, intermedia, lateral y dorsal. Estos resultados coinciden con los de PAPERZ, aunque no reconocen la existencia de un grupo ventrolateral. La división medial es la de mayor proyección craneal, y la división lateral se extiende hasta el polo inferior del núcleo. Los cinco grupos están claramente separados por haces de fibras en los niveles medios, y sus límites se vuelven imprecisos en regiones sucesivamente más rostrales.

WATSON, SAKAI y ARMSTRONG (1982) y PAXINOS y WATSON (1982) introducen algunas modificaciones en el esquema columnar de MARTIN y LODGE. Distinguen, así mismo, cinco divisiones celulares, pero con una orientación particular. En cortes transversales del núcleo facial aprecian dos columnas principales, medial y lateral, separadas por el grupo intermedio, de menores dimensiones. La porción dorsal de la columna lateral forma un grupo diferenciado: el subnúcleo dorsolateral. En ciertos niveles, la población ventrolateral se aísla del grupo intermedio. Algunas células se agrupan formando una lámina irregular dispuesta transversalmente por detrás de la superficie dorsal de las columnas medial, intermedia y lateral. Esta lámina es discontinua, y está constituida en gran parte por varios acúmulos neuronales dispersos.

Finalmente, ASHWELL (1982) y KOMIYAMA, SHIBATA y SU-

ZUKI (1984) sugieren una sistematización citoarquitónica del núcleo VII del ratón con seis subdivisiones: dos grupos laterales (lateral y dorsolateral); dos grupos mediales (ventromedial y dorsomedial); y dos grupos intermedios (ventral intermedio y dorsal intermedio). El grupo lateral es el más importante numericamente, conteniendo hasta el 34% de la población branquiomotora facial. Los subnúcleos ventral intermedio, dorsolateral y dorsomedial totalizan una cifra inferior al 30%. El 36% restante se distribuye por igual entre los grupos ventromedial y dorsal intermedio.

XI. - SUBDIVISIONES
FUNCIONALES
DEL NUCLEO MOTOR FACIAL

Una vez establecida la división citoarquitectónica del complejo nuclear facial en un número variable de columnas longitudinales, ha interesado determinar qué grado de correlación existe entre las regiones morfológicas del núcleo y su organización funcional (ver Figuras IV y V).

PAPEZ (1927) señala la influencia que puede haber ejercido la diferenciación de la musculatura mímica y de los ramos periféricos del nervio facial en el patrón de segmentación de su núcleo de origen, y concluye que ésta depende fundamentalmente de la especialización de cada subdivisión en el control de los movimientos musculares reflejos y voluntarios de las distintas regiones faciales. Según sus observaciones, la sección de los ramos auriculares posteriores produce cambios degenerativos en la parte dorsal del grupo medial. El ramo auricular anterior se originaría a partir de la columna intermedia, específicamente en la región dorsal de una banda celular situada en la vecindad del grupo medial. De la subdivisión intermedia también partirían fibras destinadas al esfínter colli profundo. La musculatura inervada por el ramo cigomático tiene su representación a nivel del grupo dorsal, centro que adquiere una importante diferenciación morfoló-

gica tanto en roedores como en algunos carnívoros (ej: gato). Contrariamente, en el perro, especie con un evidente desarrollo del ramo cigomático, no se advierte ninguna población celular de ubicación dorsal. Las neuronas que le dan origen muestran una posición central, sin clara transición con la masa intermedia. Las motoneuronas bucolabiales superiores e inferiores presentan una preferencia lateral y ventrolateral respectivamente, mientras que las células que inervan el platismo, y probablemente el músculo estapedio, se distribuyen en la parte ventral del grupo medial, por delante de la población auricular posterior. La pequeña subdivisión ventromedial agrupa, en fin, a las células de origen para el vientre posterior del músculo digástrico (Fig. V).

Otros autores, utilizando también técnicas cromatolíticas, han descrito relaciones semejantes entre los grupos del núcleo motor VII y los ramos periféricos del nervio facial. Van GEHUCHTEN (1906) localiza las neuronas de los ramos auriculares posteriores y del músculo estapedio en la subdivisión interna del núcleo facial del conejo. El ramo bucolabial superior queda representado preferentemente en el grupo externo, y el ramo bucolabial inferior en la región media. La división más dorsal envía sus fibras a través de los ramos auricular anterior y cigomático.

En el perro, la representación central de los territorios inervados por el nervio facial sigue principios de organización análogos a los descritos en -

otros mamíferos. MARINESCO (1898, 1899) encuentra - cambios cromatolíticos en la parte dorsal del grupo intermedio, después de haber lesionado el 'facial - superior' (ramos auricular anterior y cigomático), aportando la primera evidencia experimental sobre el origen de éste en una región específica del núcleo VII. Los somas del 'facial inferior', es decir, de los ramos destinados a la musculatura peribucal, se hallan localizados en el grupo externo. Las motoneuronas auriculares posteriores se concentran en la región opuesta, específicamente en la superficie ventral del grupo interno.

YAGITA (1910) ensaya, así mismo, técnicas de degeneración retrógrada en perros, demostrando la homolateralidad de los cambios cromatolíticos tras la - sección del nervio facial cerca de su emergencia - por el agujero estilomastoideo. Algunas células, de posición medial y dorsal, conservan sin embargo las características normocrómicas. Este autor establece una diferente topografía en relación al origen de los ramos cigomático y auricular anterior. El primero procede de la división lateral dorsal, mientras que las neuronas del segundo están confinadas a la región lateral de la división intermedia. La reacción cromatolítica, secundaria al traumatismo del - ramo bucolabial inferior, se detecta en el grupo mediano-ventral, y sólo afecta parcialmente al grupo lateral-ventral. Gran proporción de las células que constituyen el grupo lateral-ventral muestran signos degenerativos cuando el ramo bucolabial superior es lesionado. En este caso también existe afectación de la población mediana-ventral. Las fibras

del ramo cervical se originan en el grupo medial-ventral. Los ramos auriculares posteriores no han sido examinados directamente por el autor, pero supone que podrían derivar de la parte medial del grupo intermedio, o de la división medio-dorsal, únicas regiones sin alteraciones significativas tanto en el caso de abordaje total del nervio, como de sus ramos individuales (Fig. V).

VRAA-JENSEN (1942) confirma los resultados de YAGITA demostrando, también en el perro, el origen de los ramos bucolabiales a nivel de la región lateral del núcleo facial, de los ramos auricular anterior y cigomático en la región intermedia, y del ramo cervical en la pars ventralis del grupo medial. Según sus estudios, la lesión de los ramos auriculares posteriores se sigue de una intensa reacción degenerativa en el espesor del grupo medio-medial. El hecho de que la división dorso-medial no presente ningún tipo de alteración citológica en respuesta a la sección simultánea de todas las ramas extrapetrosas del nervio facial, con excepción de los ramos que inervan la musculatura facial profunda (músculos digástrico y estilohioideo), ha sido interpretado por este autor como una prueba a favor de la representación de estos últimos en la mencionada pars dorsalis del grupo medial (Fig. V).

COURVILLE (1966b) comprueba, en gatos de uno a diez días de edad, una distribución heterogénea de las neuronas asociadas a los ramos bucolabiales en la subdivisión lateral, sin poder establecer una demar-

cación topográfica entre la población bucolabial superior y la población bucolabial inferior. El grupo intermedio, localizado en la parte dorsal del núcleo, es el punto de partida de las fibras de los ramos auricular anterior y cigomático. El conjunto de células del grupo dorsomedial inerva la musculatura retroauricular, a través de los ramos auriculares posteriores. Finalmente, el ramo cervical está constituido por fibras procedentes de la subdivisión ventromedial (Fig. V).

SZENTAGOTHAI (1948) valora con el método de Bielschowsky-Gross la distribución topográfica de los cambios degenerativos que presentan fibras nerviosas periféricas y placas motoras como consecuencia de lesiones electrolíticas emplazadas estereotaxicamente en regiones específicas del núcleo facial del gato. La destrucción de su superficie ventromedial resulta en una degeneración casi completa de las placas mioneurales del platisma. Las motoneuronas auriculares se sitúan preferentemente en la mitad medial del núcleo: los músculos auriculares superiores están representados en los niveles inferiores; las células que inervan los músculos auriculares posteriores e inferiores tienen una posición dorsomedial y la musculatura auricular anterior recibe fibras procedentes de regiones localizadas ventrolateralmente respecto a las otras dos poblaciones. También señala que las áreas que representan a la musculatura fronto-occipital se encuentran en la mitad opuesta del núcleo VII, por delante de la población auriculopalpebral. La muscu-

latura mímica restante, músculos nasales y peribucales, está inervada por el polo superior del núcleo, a cuyo nivel las neuronas nasolabiales ocupan la porción ventrolateral, y las células mento-labiales predominan en la porción dorsomedial.

La representación topográfica de las ramas periféricas del nervio facial en su núcleo de origen ha sido estudiada recientemente bajo técnicas electrofisiológicas de registro de potenciales antidrómicos, confirmándose, tanto en gatos (S. T. KITAI y cols. 1972) como en ratas (M. R. MARTIN y D. LODGE, 1977), los resultados obtenidos con procedimientos degenerativos.

Los trabajos de KITAI y colaboradores (1972) revelan una localización exclusiva de las neuronas auriculares posteriores en la porción medial del núcleo facial. Las neuronas auriculares anteriores y cigomáticas (auriculopalpebrales) predominan en la superficie dorsal de la porción intermedia, y los ramos bucolabiales parten de la superficie ventral de ésta, aunque su principal fuente de origen - corresponde a la porción lateral.

Según MARTIN y LODGE (1977), que confirman sus hallazgos electrofisiológicos mediante el depósito de determinado marcador fluorescente (pontamine sky - blue) en las zonas del núcleo VII que muestran una respuesta máxima a la neuroestimulación periférica, el ramo auricular posterior está representado en el subnúcleo medial. La discreta población cervical se

localiza en los dos tercios ventrales del núcleo, a nivel del subnúcleo ventromedial. Las motoneuronas para los ramos bucolabiales superior e inferior se distribuyen en la subdivisión lateral, si bien afirman que la representación de éstas últimas es algo más medial, ventral y caudal. La estimulación del tronco auriculopalpebral proporciona, a diferencia de los otros ramos, dos focos con máxima amplitud de respuesta: el primer foco de actividad eléctrica (TZ1) coincide con la subdivisión intermedia, donde también sitúan el origen del ramo digástrico; el segundo (TZ2), se localiza en la subdivisión dorsal. Posiblemente TZ1 se relaciona con el ramo auricular anterior, y TZ2 con el ramo cigomático (Fig. V).

DOM, FALLS y MARTIN (1973) utilizan, en cierta especie marsupial, una modalidad de 'marcaje' celular basada en la reducción de la actividad colinesterásica que acusan las motoneuronas después de su axotomía periférica. Comprueban que la lesión experimental del ramo auricular posterior produce una pérdida constante de las propiedades tintoriales de las neuronas situadas en el extremo ventromedial del núcleo. En una posición inmediatamente dorsal refieren el origen del ramo cervical. Las preparaciones auriculares anteriores y palpebrales se caracterizan por una disminución de reactividad, limitada a las porciones ventrales de la zona intermedia. Las neuronas cigomáticas se distribuyen por toda la región intermedia, confluyendo ventralmente con la población auricular. El territorio bucolabial comprende la mayor parte de la región lateral, res-

petando una pequeña banda medial destinada a la representación auriculopalpebral (Fig. IV).

El método de transporte axónico retrógrado de peroxidasa ha contribuido decisivamente a precisar la organización funcional del núcleo motor VII, aportando datos más específicos acerca de la distribución de los somas de origen del nervio facial.

PROVIS (1977) y DOM y ZIELINSKI (1977) han efectuado los primeros ensayos sistemáticos aplicando esta técnica trazadora en sus estudios respectivos - sobre el sistema neuromuscular facial de dos especies marsupiales: *Trichosurus vulpecula* y *Didelphis marsupialis virginiana*. Ambos practican inyecciones intramusculares múltiples de HRP en grupos musculares faciales individuales, inervados preferentemente por un ramo periférico determinado.

PROVIS detecta producto de reacción en el subnúcleo dorsal intermedio tras la aplicación de un pequeño volumen de solución salina de HRP en el músculo auricular anterior. Los niveles más caudales de esa región contienen, al igual que el subnúcleo intermedio medial, y las partes más dorsales del subnúcleo lateral, las células que controlan los movimientos de las vibrisas malares, cuya inervación depende del ramo cigomático. Dicho ramo también participa, junto con el ramo bucolabial superior, en el control de la musculatura nasolabial, que parece estar representada en la región lateral del núcleo. Dentro de la -

misma región lateral, el componente cigomático muestra una preferencia dorsal en relación a la población bucolabial. El subnúcleo ventral intermedio - contiene las neuronas para el músculo del mentón, delgada lámina muscular de disposición longitudinal inervada por los ramos marginal mandibular y bucolabial inferior. La división medial, y particularmente su región dorsal, aparece marcada en los casos de inyección del músculo auricular posterior (Fig. IV).

Los resultados de PROVIS han sido confirmados por DOM y ZIELINSKI (1977), y más recientemente por DOM (1982), quien ha procedido a la inyección de HRP en aquellos grupos musculares que presentaban actividad contráctil después de someter a electroestimulación cada uno de los ramos periféricos del nervio facial. DOM, siguiendo a DOM y colaboradores (1973), distingue en el núcleo motor VII dos lóbulos, medial y lateral, separados por una región ístmica. Las fibras que componen el ramo auricular anterior parten de neuronas localizadas en la zona dorsolateral del lóbulo medial. El ramo auricular posterior está representado por neuronas situadas en las regiones - medial y dorsomedial del lóbulo medial. Una franja ventral de este lóbulo se marca selectivamente si se deposita HRP en la musculatura inervada por el ramo cervical. La región ístmica o intermedia contiene la población de origen de los ramos marginal mandibular y cigomático. La primera población es de ubicación ventral, frente a la localización dorsal propia de las neuronas cigomáticas, aunque se comprueba una extensión de los dos grupos hacia la -

porción medial del lóbulo lateral. En los dos tercios laterales del lóbulo lateral se agrupan células cuyos axones forman parte de los ramos bucolabiales (Fig. IV).

ASHWELL (1982) describe la organización musculotópica del núcleo facial utilizando la técnica HRP-neurohistoquímica en ratones de la cepa BALB/c. Las porciones laterales del núcleo, que comprenden los subnúcleos lateral y dorsolateral, inervan la musculatura nasolabial. El subnúcleo dorsal intermedio representa el origen de los ramos destinados a los músculos orbicular de los párpados, estapedio y digástrico (vientre posterior). En las regiones más ventrales de este subnúcleo, y en el subnúcleo ventral intermedio y regiones mediales del subnúcleo ventromedial localiza las neuronas para el músculo del mentón y porciones asociadas del platisma. Las divisiones mediales del núcleo facial inervan la musculatura auricular, concretamente los músculos preauriculares están representados a nivel de la subdivisión dorsomedial y los músculos retroauriculares lo están en la subdivisión ventromedial (Fig. IV).

KOMIYAMA, SHIBATA y SUZUKI (1984) aplican, en ratones albinos, inyecciones múltiples de HRP en regiones musculares faciales particulares. Al igual que ASHWELL, demuestran que la musculatura nasolabial es inervada por neuronas pertenecientes a los subnúcleos lateral y dorsolateral, pero también por gran parte del grupo dorsal intermedio. Señalan, así mis-

mo, que las neuronas laterales, dorsolaterales y dorsales intermedias inervan, respectivamente, las porciones dorsales y extremidad dorsal de esta musculatura, sus porciones rostral y dorsal, y sus porciones ventral y caudal. El músculo orbicular de los párpados y el músculo frontal están representados en las regiones dorsales de los subnúcleos dorsolateral, dorsal intermedio y dorsomedial. La inyección de la enzima peroxidasa en el músculo del mentón proporciona el marcaje del subnúcleo ventral intermedio, mientras que las células que inervan el platisma se independizan de la población mentoniana, situándose en la parte dorsomedial del subnúcleo dorsal intermedio y porciones laterales de las subdivisiones dorsomedial y ventromedial. En esta última población existe una estrecha correspondencia entre las neuronas de posición más dorsal y las porciones rostrales del platisma, por una parte, y las neuronas más ventrales y las porciones caudales del platisma, por otra. Las fibras para el músculo auricular anterior parten de la zona medial del subnúcleo dorsomedial, y la población auricular posterior ocupa una zona análoga en el subnúcleo ventromedial (Fig. IV).

El patrón de organización de las neuronas faciales ha sido también analizado en la rata, mediante técnicas trazadoras, por varios equipos investigadores.

WATSON, SAKAI y ARMSTRONG (1982) localizan el componente nasolabial a nivel de las divisiones lateral, dorsolateral y parte lateral de la división intermedia, sin poner de manifiesto una posible segre-

gación topográfica en relación a la zona muscular específicamente inyectada. La delgada lámina muscular del platisma, y las fibras anexas del músculo del mentón recibirían su inervación de la zona ventromedial del grupo intermedio. Las neuronas auriculares anteriores se distribuyen fundamentalmente por la región dorsolateral del grupo medial, y confluyen con la población auricular posterior, ubicada en la región ventromedial del mismo grupo. De la banda celular dorsal se originan los axones que controlan las musculaturas frontal y orbicular (Fig V).

HINRICHSEN y WATSON (1984) proponen una división funcional del núcleo motor VII de la rata en tres columnas longitudinales: lateral, intermedia y medial. En la columna intermedia observan una marcada superposición de las neuronas que inervan los músculos digástrico, labiales inferiores, nasolabiales, palpebrales y platisma. La representación digástrica se limita a la superficie dorsal del núcleo, en los niveles más caudales; en niveles craneales se asocia al núcleo facial accesorio. El origen del ramo bucolabial inferior suele respetar las regiones dorsales de la columna intermedia, donde se concentra la población palpebral. Las células eferentes para la musculatura nasolabial y platisma se extienden desde la columna intermedia hacia las columnas adyacentes. Las primeras ocupan la totalidad de la columna lateral. Las segundas confluyen con las motoneuronas auriculares posteriores a nivel de la columna medial (Fig. V).

Inyectando volúmenes variables de una solución salina de HRP en músculo, o instilándola directamente en el extremo proximal del ramo nervioso correspondiente, RADPOUR (1977) determina, en gatos de una a cinco semanas de edad, la localización de las neuronas que inervan el músculo orbicular de los párpados en el grupo dorsal de la división lateral del núcleo facial, y sitúa las células relacionadas con el músculo orbicular de los labios a nivel del grupo ventral, también de la división lateral. Posteriormente, RADPOUR y GACEK (1980) aportan nuevos datos referentes a la representación, en la división medial del núcleo, del platisma, vientre posterior del músculo digástrico y músculos auricular superior y frontal, lo que viene a completar el patrón funcional del núcleo motor VII adelantado por RADPOUR. En este mapa cabe destacar el doble origen, medial y lateral, que caracteriza a la inervación del músculo frontal.

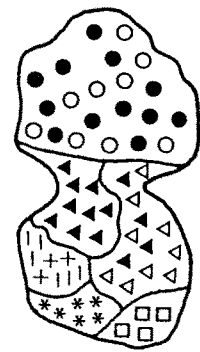
KUME y colaboradores (1978) realizan un examen detallado acerca de la distribución de las motoneuronas faciales marcadas por transporte axónico retrógrado de HRP, aplicando la enzima en regiones musculares inervadas por ramos periféricos específicos del nervio facial, y seccionando las principales ramas nerviosas que se distribuyen en territorios vecinos para evitar la captación del trazador que pueda haber difundido desde la zona de inyección. Estos estudios, efectuados en gatos recién nacidos y adultos, apuntan hacia una representación ventromedial de las neuronas cervicales. El subnúcleo me-

dial, el de mayores dimensiones, proporciona fibras destinadas a las musculaturas retroauricular, occipital y suboccipital, las cuales son alcanzadas a través del ramo auricular posterior. La inyección de HRP en la musculatura preauricular se sigue de un evidente marcaje en la subdivisión intermedia. Dorsalmente se localizan las neuronas de origen del ramo cigomático. Las neuronas bucolabiales están confinadas, por último, a las divisiones laterales del núcleo, pero en este caso la población bucolabial inferior se dispone en el subnúcleo ventrolateral y parece estar completamente dissociada de la población bucolabial superior, de orientación dorso-lateral (Fig. V).

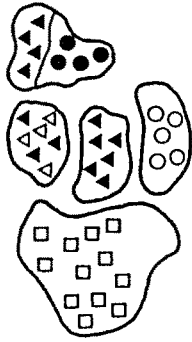
Símbolos utilizados, en las Figuras IV y V, para representar el origen de los ramos del nervio facial, o de la musculatura inervada por éstos, en el núcleo motor facial de los mamíferos:

- △ = ramo auricular anterior.
- ▲ = ramo cigomático.
- ∧ = tronco aurículo-palpebral.
- = ramo bucolabial superior.
- = ramo bucolabial inferior (+ ramo marginal-mandibular).
- * = ramo cervical.
- = ramos auriculares posteriores.
- ÷ = musculatura nasolabial.
- + = ramo digástrico.
- = ramo del músculo estapedio.

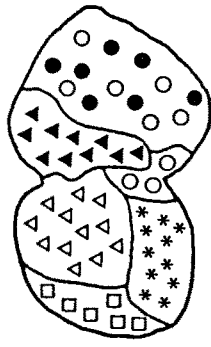
MARSUPIALES



Dom R. y cols. (1973)

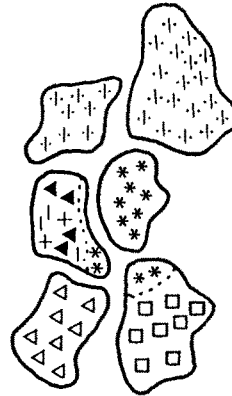


Provis J. (1977)

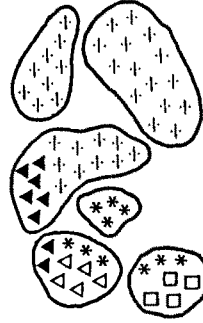


Dom R.M. (1982)

RATON



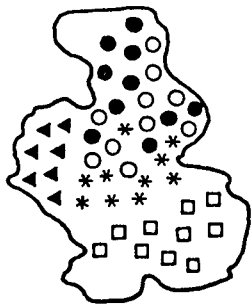
Ashwell K.W. (1982)



Komiyama M. y cols. (1984)

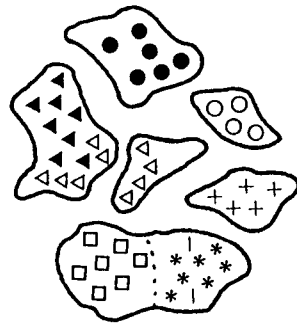
FIG. IV

RATA



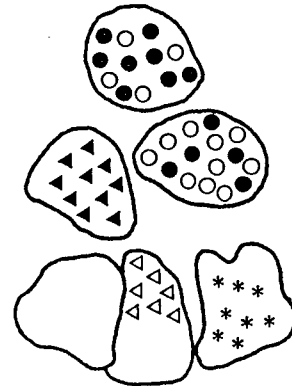
Hinrichsen C.F.L.; C.D. Watson (1984)

GATO

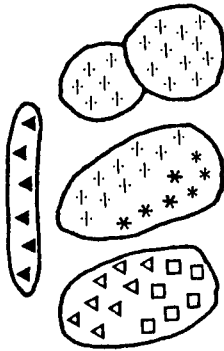


Papez J.W. (1927)

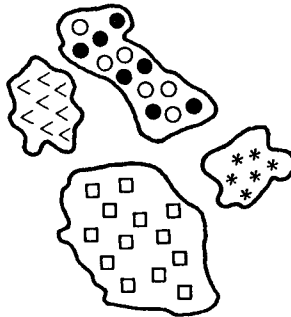
PERRO



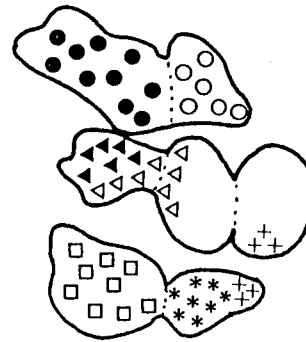
Yagita K. (1910)



Watson C.R.R. y cols. (1982)



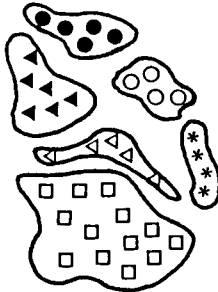
Courville J. (1966)



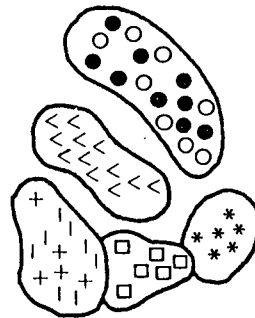
Papez J.W. (1927)

FIG. V

Kume M. y cols. (1978)



Yraa-Jensen G.F. (1942)



XII. - FUNDAMENTOS DE LA
TECNICA HRP-NEURO-
HISTOQUIMICA UTILIZADA

El conocimiento actual de la organización musculotópica del núcleo facial del perro se basa en resultados obtenidos por aplicación de métodos degenerativos, y específicamente de técnicas que detectan fenómenos cromatolíticos.

Estos cambios reactivos del pericarion neuronal o tigrolisis consisten en la desaparición progresiva de los cuerpos de Nissl, lo que se traduce por aclaramiento del citoplasma con depósitos periféricos de material cromófilo, e incluso ausencia total de los mismos. A nivel ultraestructural se comprueba la dispersión del retículo endoplasmático rugoso y una dilución de polirribosomas libres (A. PETERS y cols, 1976).

A las modificaciones citoplasmáticas citadas se asocian otras reacciones celulares retrógradas como son: desplazamiento del núcleo desde su localización central a una posición excéntrica; irregularidad de la membrana nuclear, que presenta frecuentes indentaciones; acúmulo de material basófilo en forma de un delgado anillo yuxtannuclear (nuclear caps) y engrosamiento y vacuolización del nucleolo (N. B. KINDERMAN y A. LaVELLE, 1976). Además, pueden darse alteraciones perisomáticas, fundamentalmente pérdida

y desplazamiento de botones aferentes sobre la superficie del soma afectado y gliosis (R. C. BORKE, - 1982).

Si las alteraciones somáticas y perisomáticas secundarias a la axotomía no son muy acusadas, se hace difícil la valoración del proceso degenerativo. De una parte, los signos sinápticos y nucleolares sólo pueden observarse con ayuda del microscopio electrónico. A esto se añade la inconstancia de la reacción glial y la posibilidad de cambios cromatólíticos moderados sin claras diferencias respecto al estado celular normal.

Algunos trabajos han demostrado, en motoneuronas faciales, una relación directa entre grado de respuesta a la lesión nerviosa periférica y maduración neuronal (edad del animal). SOREIDE (1981a) señala que gran proporción de neuronas inmaduras muestran habitualmente características que recuerdan la cromatolisis, y en ocasiones es imposible la correcta evaluación de la reacción axónica retrógrada. En ratas de ocho a diez días de edad la cromatolisis central es intensa, pero en individuos adultos los cambios degenerativos apenas son discernibles.

También se han observado en el sistema facial diferentes modalidades de reacción axónica dependiendo, primero, del tipo de lesión aplicada al nervio, ya sea aplastamiento, elongación o sección, y en segundo lugar, de la especie experimental (L. K. McLOON y A. LaVELLE, 1981; A. J. SOREIDE, 1981a, 1981b).

Estas importantes limitaciones que presentan las técnicas degenerativas han sido superadas con la introducción de las técnicas trazadoras HRP-neurohistoquímicas. métodos basados en la aplicación de cierto tipo de peroxidasa vegetal que es captada por la terminación nerviosa y transportada en el interior de vesículas en dirección retrógrada hacia el soma. Numerosas experiencias han demostrado que las etapas de captación y transporte axónico corresponden a procesos fisiológicos de la neurona, procesos que se consideran mediadores en un sistema de información entre periferia y núcleo que interviene probablemente en la regulación del crecimiento cilindroaxil ('sprouting'), transferencia de factores tróficos entre órgano diana y extremidad nerviosa, transmisión de señales químicas desencadenantes de cambios cromatolíticos, reajuste de los fenómenos de muerte celular, y reacciones de regeneración transneuronal (M. A. BISBY, 1980).

Precisamente la enzima peroxidasa se había empezado a utilizar como marcador proteico en el estudio de los mecanismos de endocitosis, sustituyendo a la hemoglobina, globina, ferritina y otras macromoléculas electrodensas. GRAHAM y KARNOVSKY (1966) modifican la técnica HRP-histoquímica hasta entonces disponible (método de Straus) en un trabajo clásico sobre absorción tubular renal de proteínas, reemplazando la bencidina del método original por la 3, 3'-diaminobenzidina. Así mismo recomiendan la fijación del tejido con una mezcla aldehídica (M. J. KARNOVSKY, 1965), que facilita el examen correlativo, estructural y ultraestructural, del material.

Las primeras pruebas a favor de la existencia del flujo axoplásmico en sentido centrípeto proceden de la observación directa o por microcinematografía de la cinética de partículas y orgánulos celulares 'in vitro'. Por otra parte, el acúmulo de material en las porciones proximales y distales a la ligadura nerviosa se interpretó como la interrupción local de un tráfico bidireccional constante de axoplasma.

KRISTENSSON (1970a) identifica corpúsculos virales en el citoplasma de neuronas sensitivas y motoras tras la inoculación de virus herpes simplex por vía subcutánea e intramuscular. Aunque no excluye la hipótesis de una propagación a través de las células de Schwann, explica sus resultados por un mecanismo de transporte intraaxónico del agente infeccioso. Al poco tiempo, el mismo autor (K. KRISTENSSON, 1970b) demuestra la captación y circulación disto-proximal del complejo fluorescente formado por la unión de albúmina bovina y azul de Evans en motoneuronas espinales, después de inyectarlo en el músculo gastrocnemio de ratones recién nacidos.

La excitación por radiación ultravioleta de este compuesto produce una fluorescencia roja característica que facilita su identificación, pero el bajo poder resolutivo de la microscopía de fluorescencia y la poca estabilidad del complejo seroalbúmina-fluorocromo llevaron a KRISTENSSON y OLSSON (1971) a reemplazar el método histofluorescente por la técnica enzimática de GRAHAM y KARNOVSKY, asentando las bases de los procedimientos trazadores -neuroanatómicos actuales.

LaVAIL y LaVAIL (1972) obtienen resultados análogos al reproducir en el sistema nervioso central el marcaje obtenido en nervios periféricos. Tras la precipitación del cromógeno en las células ganglionares retinianas y en el núcleo istmo-óptico por administración de HRP a nivel del techo óptico y globo ocular del pollo respectivamente, establecen que el mecanismo de transporte retrógrado de proteínas es un proceso generalizado en el sistema nervioso.

Estos trabajos previos mostraban algunas limitaciones en cuanto a sensibilidad del método histoquímico, que han sido superadas progresivamente con la modificación de los parámetros de fijación e incubación de la enzima. Recientemente, la conjugación de HRP con lectinas -aglutinina del germen de trigo (WGA)- ha representado otro avance significativo en el examen de conexiones centrales, debido a la mayor captación y restricción del complejo HRP-WGA en la zona de inyección (Wm. A. STAINES y cols., 1980).

Las peroxidasas (donador: peróxido de hidrógeno óxido-reductasa, E.C. 1.11.1.7) son enzimas muy difundidas en tejidos vegetales que catalizan la oxidación de ciertos compuestos en presencia de peróxidos (peróxido de hidrógeno o peróxidos monosustituidos). Enzimas con actividad peroxidásica han sido purificadas a partir de leche de higuera, rábano, levadura, boniato, judía, nabo, altramuza y trigo (M. H. KLAPPER y D. P. HACKETT, 1965). La peroxidasa proceden-

te de la raíz del rábano (*Amaracia lapathifolia*) o HRP fué la primera en cristalizarse.

La enzima HRP es una proteína unida covalentemente a un grupo hemo (D. KEILIN y E. F. HARTREE, 1951), con un peso molecular de 40.000 daltons. En la forma nativa de esta hemoproteína se encuentran grupos carbohidrato. La secuencia aminoacídica del isoenzima más frecuente en la HRP comercial, el isoenzima C de SHANON y cols., o IIIb de PAUL y STIGBRAND, contiene 308 residuos aminoácidos y cuatro puentes disulfuro. Ocho carbohidratos neutros interaccionan con los grupos asparragina de la cadena polipeptídica (M-M. MESULAM, 1982).

Las moléculas de HRP alcanzan concentraciones mínimas en el citoplasma neuronal, y no pueden visualizarse directamente, habiéndose desarrollado tres métodos para su detección a nivel de microscopía óptica (W. B. WARR y cols., 1982). El primer método consiste en marcar la enzima con un isótopo radioactivo y estudiar su distribución por medio de técnicas autorradiográficas (S. B. EDWARDS y A. HENDRICKSON, 1982). Otra posibilidad implica la localización de HRP por métodos inmunohistoquímicos, a través de la formación del complejo peroxidasa-antiperoxidasa - que se determina por histoquímica o fluorescencia - (G. R. BULLOCK y P. PETRUSZ, 1982; E. H. BEUTNER y cols., 1983). El tercer método, ampliamente difundido por su alta sensibilidad, persigue la precipitación de productos de fácil identificación, denominados cromógenos, que participan en la reacción enzimática.

El progreso de los métodos HRP-histoquímicos ha dependido en gran medida del ensayo de cromógenos - adecuados. Estos compuestos cambian de color al ser oxidados por el complejo peróxido-HRP. Sin embargo, sólo tienen aplicación histoquímica aquellos cromógenos cuya oxidación resulta en la precipitación de un polímero insoluble que permanece visible en la zona del tejido con actividad peroxidásica.

Muchos cromógenos descritos en HRP-histoquímica son aminas aromáticas afines al grupo de las bencidinas y sus derivados, aunque se han empleado sustancias con diferente estructura química, como el 4-cloro-1-naftol, o las asociaciones de p-fenilelediamina y pirocatecol (PPD-PC) (J. S. HANKER y cols., 1977), o del ácido homovanílico y rhodamina B.

Entre los derivados de la bencidina de uso más extendido se incluyen: DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) (R. C. GRAHAM y M. J. KARNOVSKY, 1966; J. H. LaVAIL y M. M. LaVAIL, 1974; J. C. ADAMS, 1977; P. STREIT y J. C. REUBI, 1977); BDHC (benzidine dihydrochloride) (G. LYNCH y cols., 1974; M-M. MESULAM, 1976; J. S. De OLMOS y L. HEIMER, 1977); TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) (M-M. MESULAM y D. L. ROSENE, 1977; J. S. De OLMOS y cols., 1978; M-M. MESULAM, 1978); orto-dianisidina (dimethoxybenzidine) (J. S. De OLMOS, 1977); y orto-tolidina (dimethylbenzidine). La DAB proporciona típicamente un producto de reacción de color marrón, la orto-dianisidina un precipitado verde, y los compuestos reducidos de TMB y otras bencidinas son de color azul.

Estos métodos también difieren en su potencial para

revelar pequeñas concentraciones de HRP. y por consiguiente de la extensión y tipo de conexiones nerviosas implicadas en un sistema específico. MESULAM y ROSENE (1979) han confirmado, comparando nueve procedimientos HRP-histoquímicos estándar, la superioridad de la tetrametilbencidina sobre los demás cromógenos, siendo éste el compuesto seleccionado en nuestro estudio experimental.

Para poder establecer de forma objetiva la topografía de los somas de origen de los ramos periféricos del VII par a nivel del complejo nuclear facial del perro, y previo análisis de la morfología normal del núcleo y trayecto del nervio facial con métodos cito- y mielo- arquitectónicos, hemos considerado la utilización de la técnica de marcaje con peroxidasa (HRP) por su efectividad en la demostración de neuronas eferentes, obviando las limitaciones de las técnicas degenerativas.

MATERIAL Y METODOS

ANIMAL EXPERIMENTAL

Se ha seleccionado el perro como animal experimental por tratarse de una especie de gran interés - neuroanatómico, que comparte con el hombre ciertos patrones generales de organización nerviosa (ej: giroencefalia), excluyendo otros mamíferos de utilización común en el laboratorio, como la rata, el ratón, el cobaya y el conejo, cuya condición lisencefálica podría interferir en la arquitectura de sus centros subcorticales.

Se han utilizado 43 perros jóvenes, de 2 a 18 semanas de edad, de ambos sexos, y con pesos comprendidos entre 450 y 7230 gramos. Sus características individuales y el procesamiento aplicado figuran en las Tablas I y II.

En la primera relación también se incluyen 3 perros adultos, utilizados como grupo control de la distribución periférica y del trayecto intraencefálico - del nervio facial. Otros 3 animales (PH2, PH4, PJ4) se emplearon para el estudio, mediante disección macroscópica, de las ramificaciones principales del nervio facial y de la disposición de la musculatura facial superficial.

En la Tabla II se indican los animales sometidos al procedimiento HRP-neurohistoquímico, especificándose el ramo, volumen y vehículo disolvente de la enzima inyectados.

Tabla I

Id.	Edad (sem)	Peso (gr)	Sexo (M/H)	Método
PA1	2	460	H	Nissl
PA2	3	450	M	Nissl
PA3	4	660	M	K. -B.
PB2	6	1530	M	Nissl
PD1	9	2750	H	Nissl
PF5	16	4200	H	K. -B.
PF6	17	3450	H	Weil
PG5	9	2340	H	K. -B.
PG6	10	2450	M	Weigert-Pal
PH2	7	2130	M	Disección
PH4	8	2050	H	Disección
PJ3	7	2780	H	K. -B.
PJ4	8	2720	M	Disección
Adultos				
A1			M	Weil
A2			M	Weigert-Pal
A3			H	Disección

Tabla II

Id.	Edad (sem)	Peso (gr)	Sexo (M/H)	Ramo	Vol. (µl)	Superv. (h)	Disolv.
PA5	13	4480	H	Bucolab. inf. izq.	8	96	salino
PA6	14	4320	M	--	--	--	--
PA7	18	7230	M	Auric. ant. izq.	6	96	salino
PC1	3	880	H	Bucolab. sup. izq.	6	48	salino
PC2	4	970	M	Cigomático izq.	5	48	salino
PC3	4	1020	H	Auric. ant. izq.	5	48	salino
PC4	5	1060	H	Auric-palp. izq.	6	48	salino
PC5	5	1060	H	Bucolab. inf. izq.	6	48	salino
PE1	4	750	H	Auric. post. izq.	5	48	salino
PE3	5	830	M	Cervical izq.	5	48	salino
PE4	7	1220	M	Control difusión	5	48	salino
PF2	12	2060	H	Bucolab. sup. izq.	4	48	salino
				Bucolab. inf. dch.	5	48	salino
PF3	12	2200	H	Bucolab. inf. izq.	3	48	salino
PF4	12	2130	M	Bucolab. sup. izq.	4	72	salino
PF7	17	3570	M	--	--	--	--

Tabla II (cont.)

Id.	Edad (sem)	Peso (gr)	Sexo (M/H)	Ramo	Vol. (µl)	Superv. (h)	Disolv.
PG1	5	1120	H	Bucolab. sup. izq.	3	48	salino
PG2	7	1700	H	Bucolab. inf. izq.	3	48	salino
PG3	7	1770	H	Bucolab. sup. izq.	3	48	salino
PG4	9	2780	H	Cervical izq.	3	48	salino
PH7	10	2390	M	Cigomático izq.	5	72	H ₂ Od
PH8	11	2510	M	Cigomático izq.	5	96	H ₂ Od
PH9	11	2140	M	Cigomático izq.	4	72	H ₂ Od
PI1	5	1290	M	Cervical izq.	5	48	H ₂ Od+DMSO
PI2	5	1220	H	Auric. ant. izq.	5	48	H ₂ Od+DMSO
PI3	6	1900	M	Auric. post. izq.	5	72	H ₂ Od+DMSO
PI4	6	1500	H	Auric. post. izq.	6	72	H ₂ Od+DMSO
PI5	7	2250	M	Cigomático izq.	5	72	H ₂ Od+DMSO
PI6	7	2350	H	Auric. ant. izq.	5	72	H ₂ Od+DMSO
PJ1	4	1480	H	Cervical izq.	4	72	H ₂ Od+DMSO
PJ2	4	1420	M	Bucolab. sup. izq.	5	72	H ₂ Od+DMSO

TECNICA DE FIJACION

Independientemente del tipo de procesamiento efectuado, los animales son fijados por perfusión transcardíaca con la finalidad de impedir cualquier daño estructural por efecto de la anoxia y obtener su fijación 'in situ'. Después de una profunda anestesia con éter etílico, o con ketamina intramuscular (Ketolar, Parke-Davis), y de una correcta inmovilización, es aconsejable la heparinización endovenosa. Se practica una incisión en la cara interna de la extremidad posterior, canulando seguidamente la vena safena, de curso superficial, o la vena femoral (Fig. VI), por cuya vía se administran 500 a 1000 Unidades de heparina sódica (Rovi, o Substancia) en 10 ml de suero fisiológico.

A los pocos minutos se realiza una toracotomía media, rechazando bilateralmente los planos cutáneos y musculares. La apertura de la caja torácica se facilita con un abordaje abdominal alto, seccionando primero el diafragma y a continuación la parrilla costal a través de los cartílagos esterno-costales, cerca de la línea media. Abordajes más laterales lesionan innecesariamente las arterias mamarias internas, cuyo sangrado puede dificultar maniobras posteriores.

Seguidamente, se abre el peto esterno-costal, aplicando un separador, y se libera el corazón de la envoltura pericárdica. La Figura VII muestra la disposición de la cánula de perfusión en el ventrículo izquierdo a nivel del vértice cardíaco. Una vez situada ésta en la salida de la Aorta ascendente, se fija por su base. Tras el clampaje de la Aorta descendente y de la apertura de una vía de drenaje en la aurícula derecha (Fig. VIII), se perfunde un volumen de 200 a 300 ml de solución salina fisiológica para sustituir el contenido sanguíneo del tejido cerebral, seguida de 2500 a 3000 ml de solución fijadora tamponada de composición variable según el método. Habitualmente el primer líquido de perfusión, solución de cloruro sódico al 0.9%, contiene cierta proporción de vasodilatador (1-2 ml de nitroprusiato al 1%).

El periodo de perfusión varía entre treinta y cuarenta minutos. En los casos de procesamiento histológico, este tiempo se prolonga otros veinte o treinta minutos, para permitir el paso de 2000 ml de una solución de sacarosa al 10% que, además de eliminar el exceso de fijador, tiene función crioprotectora.

Finalizada la perfusión, se procede a la decapitación del animal y a la extracción del encéfalo. Se practica, con bisturí, una incisión cutánea y aponeurótica paralela a la sutura interparietal, entre la implantación nasal y el relieve óseo de las apófisis espinosas de las primeras vértebras cervicales. Despejada la calota de tejidos blandos, y evacuado el contenido de las cavidades orbitarias, se

levanta la bóveda craneal siguiendo el trayecto de las suturas. Por último, debe abrirse la duramadre en todo el perímetro, y elevando ligeramente la masa encefálica se seccionan los pares craneales, cerca de su salida por los agujeros de la base.

El tronco del encéfalo se aísla del resto de la pieza mediante una sección transversal efectuada en la transición meso-diencefálica. En las primeras experiencias con HRP, el bloque procesado incluía desde el mesencéfalo hasta los segmentos rostrales de la médula espinal, pero comprobada la ausencia total de marcaje por fuera de los límites del núcleo y del trayecto del nervio facial, pasamos a utilizar bloques de menores dimensiones, conteniendo exclusivamente bulbo superior, región del cuerpo trapezoides y niveles medios de la protuberancia. En la mayor parte de estudios también eran seccionados los pedúnculos cerebelosos y se prescindía del cerebelo, facilitando los trabajos de microtomía.

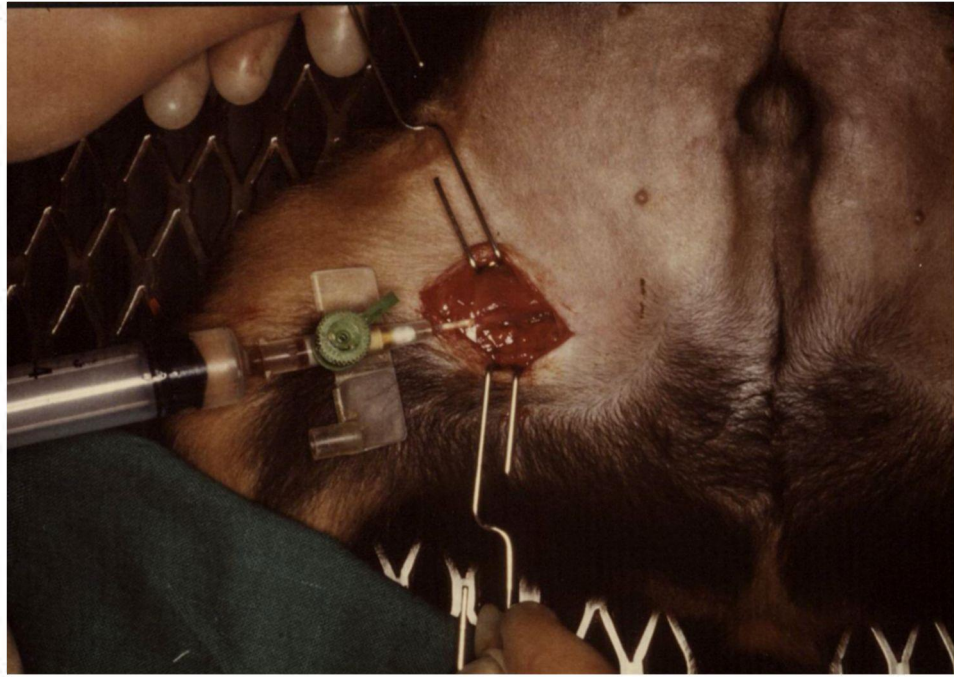


Fig. VI



Fig. VII

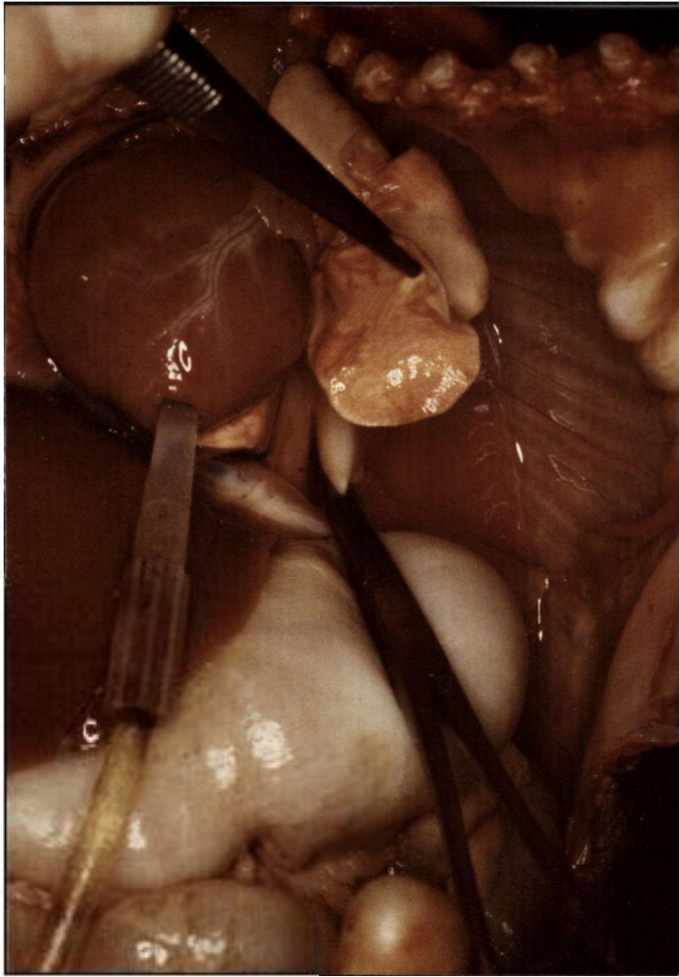


Fig. VIII

METODOS CITO- Y

MIELO- ARQUITECTINICOS

- METODOS DE NISSL Y KLÜVER-BARRERA

Los animales procesados para el estudio citoarquitectónico (método de Nissl), mieloarquitectónico (Luxol Fast Blue), o combinación de ambos (método de Klüver-Barrera). han sido fijados por perfusión intracardiaca de una solución de paraformaldehído (PF) (Panreac) al 4%, en tampón fosfato 0.1 M y a temperatura ambiente. El líquido fijador se prepara añadiendo PF en polvo a un volumen de agua destilada a 60-70°C, y en agitación constante. La mezcla, inicialmente turbia, se aclara con unas gotas de hidóxido sódico 1 N. A continuación se deja enfriar y, después de filtrada, se añade el tampón fosfato, ajustándose su pH a 7.4.

Los bloques de tejido, de 5 ó 6 mm de espesor, se postfijan en la misma solución por un periodo no inferior a una semana. Tras un lavado abundante, las muestras son deshidratadas en gradientes de alcohol. Por lo general se precisan 5 cambios en alcohol etílico de concentración creciente y 2-3 cambios en alcohol butílico, antes de iniciar la inclusión en parafina.

Hemos procedido a la microtomía seriada de las piezas, a 10 μ m de espesor, según planos transversal y horizontal, recogiendo la totalidad de secciones en portas gelatinizados. Desparafinadas e hidratadas convenientemente, las preparaciones han sido teñidas con anilinas (tionina, violeta de cresil) y colorantes de afinidad por las vainas de mielina - (Luxol Fast Blue), siguiendo los métodos de Nissl y de KLÜVER Y BARRERA (1953). En el último apartado de Material y Métodos se indica el protocolo de preparación de las soluciones y métodos de tinción más importantes que se han utilizado en el presente estudio.

- METODOS DE WEIL Y WEIGERT-PAL

La técnica clásica de Weigert, introducida a finales del siglo pasado y modificada por PAL en 1887, se basa en la reducción de sales de cromo a dióxido de cromo por acción de la mielina, actuando dicho compuesto como mordiente. La hematoxilina que se utiliza seguidamente proporciona una intensa coloración azul oscura a las fibras mielínicas, permaneciendo el resto de estructuras sin teñir, o con un discreto tinte amarillento.

En el método de Weigert-Pal los bloques histológicos, con un grosor de unos 5 mm, se fijan durante 4 días en una solución de dicromato potásico y fluoruro de cromo; es el 'mordiente rápido de Weigert'.

Las piezas son lavadas, deshidratadas en alcohol e incluidas en parafina, cortándose de forma seriada a 10 μm de espesor. Tratadas las preparaciones con una solución alcalina de hematoxilina, se les puede aplicar opcionalmente una contratinción de fondo, con safranina o violeta de cresil.

El método de Weil es una variante del proceder de Weigert muy apropiada para secciones en parafina, y tiene la ventaja sobre el anterior de ofrecer rápidos resultados. No precisa del tratamiento previo con el mordiente rápido de Weigert, y emplea una hematoxilina férrica.

METODO HRP-NEUROHISTOQUIMICO

El estudio HRP-neurohistoquímico se ha desarrollado en las siguientes etapas:

- intervención quirúrgica.
- periodo de supervivencia.
- fijación.
- procesamiento histoquímico:
 - tratamiento crioprotector.
 - criomicrotomía.
 - lavado pre-reacción.
 - preincubación.
 - incubación.
 - lavado post-reacción.
- montaje, contratinción, deshidratación.
- estudio de las preparaciones.

- Intervención quirúrgica

Antes de iniciar la intervención quirúrgica se induce un estado preanestésico con derivados tiazínicos por vía intramuscular (Rompún, Bayer, 0.15-0.30 ml/kg), cuya acción miorelajante permite disminuir la dosificación de anestésico, y por consiguiente

el riesgo de depresión cardiorrespiratoria. Dos de los animales (PA6, PF7, Tabla II) se rechazaron precisamente por haber presentado graves problemas respiratorios y éxitus durante este periodo.

La exposición de la rama del nervio facial a inyectar, se efectúa de acuerdo con la vía de acceso más apropiada. En el caso de los ramos bucolabiales superior e inferior se practica una incisión en la región maseterina, paralela al borde libre mandibular y caudal a la comisura de los labios, por encima y por debajo del conducto de Stenon, respectivamente.

El ramo cigomático sigue la línea que une la comisura palpebral con la zona ventral de implantación del pabellón auricular (Fig. IX). Este nervio, de curso dorsal respecto al arco cigomático, suele verse asociado, al igual que el ramo bucolabial superior, con fascículos sensitivos procedentes del nervio auriculotemporal, que han sido cuidadosamente excluidos de la aplicación de HRP.

Para localizar el ramo auricular anterior hemos procedido al abordaje preauricular según una incisión vertical desde la región parotídea. Seccionando el músculo cigomático-auricular y siguiendo el plano de clivaje limitado por la cara medial de la glándula parótida, se alcanza el punto de bifurcación entre los ramos auricular anterior y cigomático. Dicha vía también ha resultado útil en la inyección del tronco auriculopalpebral.

Los ramos auriculares posteriores abandonan el ner-

vio facial a nivel del orificio estilomastoideo, adquiriendo un trayecto de dirección caudodorsal bajo la porción cervical del platisma y músculo temporal, estructuras que deben seccionarse junto con otros pequeños músculos retroauriculares. Además del reducido campo operatorio, se plantean problemas en la exposición de estos ramos por la presencia constante de la arteria auricular mayor.

La rama cervical del nervio facial se puede observar cruzando la superficie de la glándula submandibular, después de efectuar una incisión oblicua en la delgada porción facial del platisma que la cubre y liberar la cápsula conjuntiva de la glándula.

Una vez identificada y disecada la rama objeto de estudio, se le practica una sección lo más distal posible al tronco de origen, pero previa a su primera bifurcación. Se introduce su extremo proximal en un tubo de polietileno (Butterfly-21 RA, Abbot) de 10 mm de longitud y 0.6 mm de diámetro interior, traccionando el nervio con un hilo de sutura (7/0) - anudado al perineuro (Fig. X). Habitualmente se aplica un discreto aplastamiento sobre el muñón terminal, mediante pinzas provistas de diente, y se le mantiene inmerso en suero salino o agua destilada mientras se prepara la enzima. En todas las experiencias se ha utilizado HRP Sigma tipo VI, altamente purificada, al 30% de concentración, modificando en algunos casos el volumen de inyección (Tabla II). Con la finalidad de incrementar el marcaje neuronal han sido empleados tres tipos de disolvente: suero salino, agua destilada y una solución acuosa de dimetilsulfóxido (DMSO, Quimigranel) al 2%,

si bien los resultados no han demostrado claras diferencias en el grado de captación del trazador por la terminación.

Previo a la inyección de la enzima debe eliminarse el líquido que baña la extremidad nerviosa, controlando el posible sangrado de los vasos perineurales (Fig. XI). Depositados de 3 a 6 μ l de la solución con ayuda de una microjeringa Hamilton (Fig. XII), se precintan ambos extremos del tubo con material de impresión dental (Coltex, Coltène), evitando en lo posible la difusión de la enzima a estructuras vecinas. El tubo de polietileno se fija con dos puntos de seda a planos profundos (Fig. - XIII). A continuación, se cierran los planos músculo-aponeuróticos teniendo la precaución de cubrir totalmente el tubo, suturando finalmente la piel con puntos sueltos.

- Periodo de supervivencia

Si en la intervención quirúrgica se han tomado las medidas antisépticas adecuadas, y posteriormente se sigue la evolución de la herida operatoria, no es necesario recurrir a una profilaxis antibioterápica.

Durante el periodo postquirúrgico también se han evaluado los signos clínicos secundarios a la lesión nerviosa periférica, siendo muy aparentes la falta de cierre palpebral espontánea y refleja en la sección del ramo cigomático (Fig. XIV), la caída del pabellón auricular cuando se lesionan los ramos

auriculares. o la asimetría bucal e hipersialorrea en las intervenciones de los ramos bucolabiales.

El cálculo aproximado del tiempo de supervivencia del animal se basa en la estimación de la distancia que ha de recorrer la peroxidasa desde su punto de aplicación hasta su destino en el interior del neuroeje, y teniendo en cuenta que la velocidad del transporte axónico retrógrado es de unos 48-120 mm/día (K. KRISTENSSON y cols., 1971; J. H. LaVAIL y M. M. LaVAIL, 1972). Considerando estos dos factores, hemos adoptado periodos de supervivencia que oscilaban entre 48 y 96 horas.

- Fijación

Transcurrido este intervalo de tiempo se procede, bajo anestesia general, a la fijación del encéfalo por perfusión intracardíaca, técnica que ya hemos comentado con detalle anteriormente. La composición del líquido fijador consiste en una solución de PF al 1% (paraformaldehído, Panreac) y GA (glutaraldehído 25%, Merk) al 1.25%, en tampón fosfato 0.1 M. La mezcla se prepara según las recomendaciones de KARNOVSKY (1965), a menores concentraciones que en el método original, y se ajusta su pH final a 7.4. Tanto el fijador como la solución de sacarosa al 10% que se perfunde a continuación, son administrados a 4°C de temperatura, con objeto de preservar la actividad catalítica de la enzima.

- Procesamiento histoquímico

El fragmento del tronco del encéfalo seleccionado para procesamiento histoquímico permanece a 4°C en la misma solución crioprotectora hasta su completa saturación. A las 12 ó 24 horas de la inmersión se pasa a la criomicrotomía de la pieza, practicando cortes transversales y horizontales, de 50 μ m de espesor, que se recogen en tampón fosfato 0.1 M. frío, pH=7.4, en dos series alternativas.

La primera serie consta de una cuarta parte de secciones, que son transferidas a formol tamponado al 10% donde permanecen 8 días. En esta serie se sigue un procedimiento paralelo al descrito en el método de Nissl, y es utilizada como control topográfico.

La segunda serie comprende el resto de secciones, (3/4 partes), procesándose según la técnica de MESULAM (1978), recientemente modificada (M-M. MESULAM, 1982). Eliminado el exceso de fosfatos con dos o tres lavados prolongados en agua destilada, se preincuba la serie 25 minutos en una solución alcohólica de 3,3'-5,5' tetrametilbencidina (TMB, Sigma) al 0.2%, disuelta en una solución acuosa de nitroferrocianuro sódico (Probus) al 0.1%, en la proporción 2.5:97.5. En los 25 minutos siguientes las secciones se incuban en la misma disolución a la que se añade una solución de peróxido de hidrógeno al 0.3% (Perhydrol 30%, Merk) en la proporción 100:4, obteniéndose una concentración definitiva de agua oxigenada de 0.012%. Las fases de preincubación e incubación deben llevarse a cabo a temperatura ambiente, en agitación constante y protegidas de la

incidencia directa de la luz.

Seguidamente se estabiliza el producto de reacción con 5 lavados en tampón acetato 0.2 M en una dilución 1:20 en agua destilada, pH=3.3 y a 4°C, totalizando un máximo de 30 minutos.

- Montaje, contrateñición, deshidratación

El último lavado en tampón acetato se utiliza como medio de montaje de los cortes sobre portaobjetos gelatinizados. Es conveniente, una vez secadas las preparaciones, contrateñir dos tercios de la serie enzimática con una variante rápida de Nissl, mientras que secciones alternativas deben ser simplemente deshidratadas en gradientes de alcohol, aclaradas en xilol, y cubiertas en un medio neutro sintético (DPX).

Los cortes histológicos han sido distribuidos de forma rutinaria en las distintas series atendiendo al siguiente criterio: el primero y tercer cortes se procesan para histoquímica y son contrateñidos; el segundo corte también se trata enzimáticamente pero sólo es deshidratado, empleándose como serie de reserva; el cuarto corte, recogido en formol, se tiñe por el método de Nissl. A partir de la quinta sección se repite la misma secuencia.

- Estudio de las preparaciones

El estudio sistemático de las preparaciones se ha efectuado en un microscopio Leitz Orthoplan, con oculares de x10 aumentos, y objetivos plano-acromáticos de x4, x10 y x25 aumentos, bajo iluminación directa y campo oscuro, recurriendo ocasionalmente al exámen con objetivo de inmersión (x40)

En una primera fase de observación hemos cuantificado el número total de somas marcados, considerando positivas aquellas neuronas en las que la densidad del precipitado oculta por completo las estructuras celulares internas, o bien el producto de reacción se limita a un granulado citoplasmático difuso que permite visualizar el perfil nuclear.

Las características que presenta el material precipitado a nivel de microscopía óptica corresponde a las descripciones habituales del marcaje neuronal por transporte axónico retrógrado de HRP (W. B. WARR y cols., 1982). Se trata de un acúmulo de gránulos esféricos u ovalados de pequeño diámetro, de color azul oscuro (M. M. MESULAM y D. L. ROSENE, 1977; M. M. MESULAM, 1978) y distribución perinuclear que, extendiéndose particularmente al interior de las ramificaciones dendríticas principales, alcanza incluso los segmentos proximales del axón. Con iluminación en campo oscuro, método sugerido por NAUTA y colaboradores en 1974 para la correcta identificación de las neuronas positivas, los gránulos reducidos de TMB muestran una típica coloración dorada debida a su alto poder birrefringente. Dicho tipo de iluminación ha sido de gran valor en aquellas

preparaciones cuya granulaci3n, observada en campo claro, pod3a confundirse con artefactos de la t3cnica.

Finalizado el contaje neuronal, hemos procedido al dibujo de secciones alternativas de la serie enzimática contrateñida . en dos escalas, mediante una cámara clara de Abbé adaptada a un microscopio Wild M-20, y siguiendo un sentido caudo-rostral a partir del polo inferior del núcleo facial. Estas proyecciones han tenido una doble finalidad:

- los esquemas dibujados con aumentos panorámicos (x24) han permitido estudiar la distribución que adoptan la neuronas HRP (+) en los distintos campos citoarquitectónicos del núcleo facial.
- los dibujos del contorno de los somas neuronales, reproducidos a 360 aumentos, proporcionaron el material necesario para el análisis morfométrico de las poblaciones marcadas.

Los aumentos referidos se obtienen del producto entre la potencia del ocular (x6) y la potencia de los objetivos (x4 y x60). Sin embargo, las magnitudes reales de ampliación de las preparaciones se calculan multiplicando este producto por un factor que depende de la distancia que va desde el dispositivo de proyección a la superficie de dibujo. En la práctica, y considerando el factor de corrección correspondiente, se ha trabajado con aumentos de x60

y x900.

Una vez representada la posición de las neuronas contrateñidas del núcleo facial en el dibujo a pequeña escala, hemos identificado la localización exacta de las células positivas. Con una observación microscópica detenida ulterior confirmamos el marcaje detectado en la cámara clara. Pero antes de retirar el porta de la platina es aconsejable delimitar el contorno ventral de la preparación, y todos aquellos accidentes que faciliten la orientación entre cortes sucesivos, como orificios vasculares, roturas del tejido, formaciones nerviosas (ej: fascículo piramidal, tracto espinal del trigémino, cuerpo trapezoides, rafe), o las marcas que se imprimen en la pieza durante la microtomía.

Para poder evaluar la disposición espacial propia de una población neuronal es necesario orientar correctamente los cortes histológicos, operación que, por otra parte, es obligada en la reconstrucción estereométrica de cualquier estructura anatómica. La correspondencia entre dos secciones correlativas se establece previo trazado de los ejes cartesianos sobre papel milimetrado, y su traslado por transparencia al primer dibujo en un negatoscopio. La proyección de los ejes en el resto de láminas se efectúa también por transparencia, teniendo en cuenta que la orientación axial definitiva debe hacer mínimas las diferencias entre los contornos homólogos; de ahí la importancia que adquiere la recogida del máximo número de accidentes 'geográficos' de la preparación.

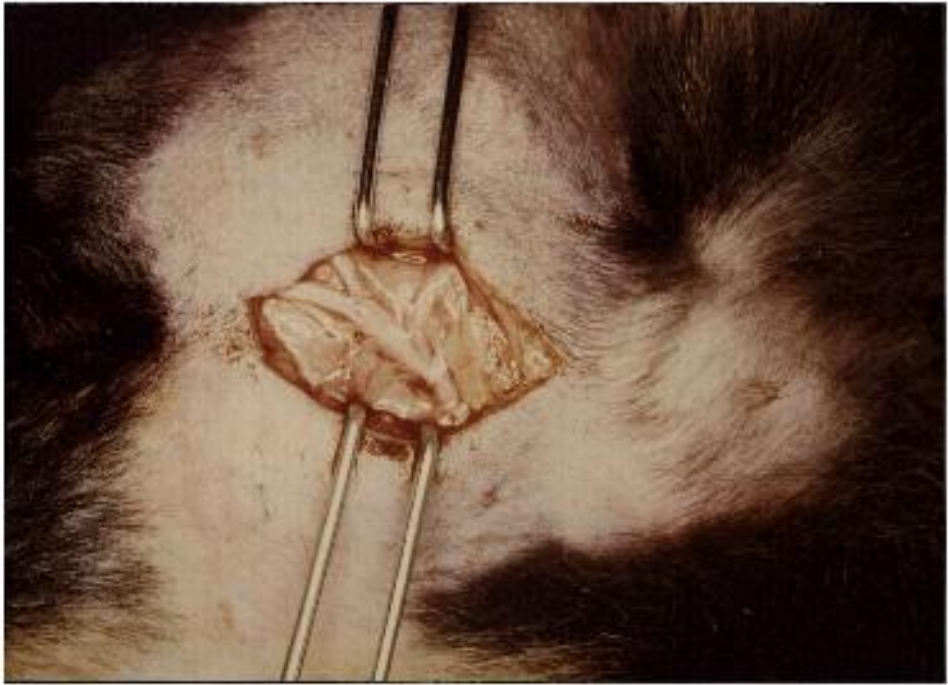


Fig. IX

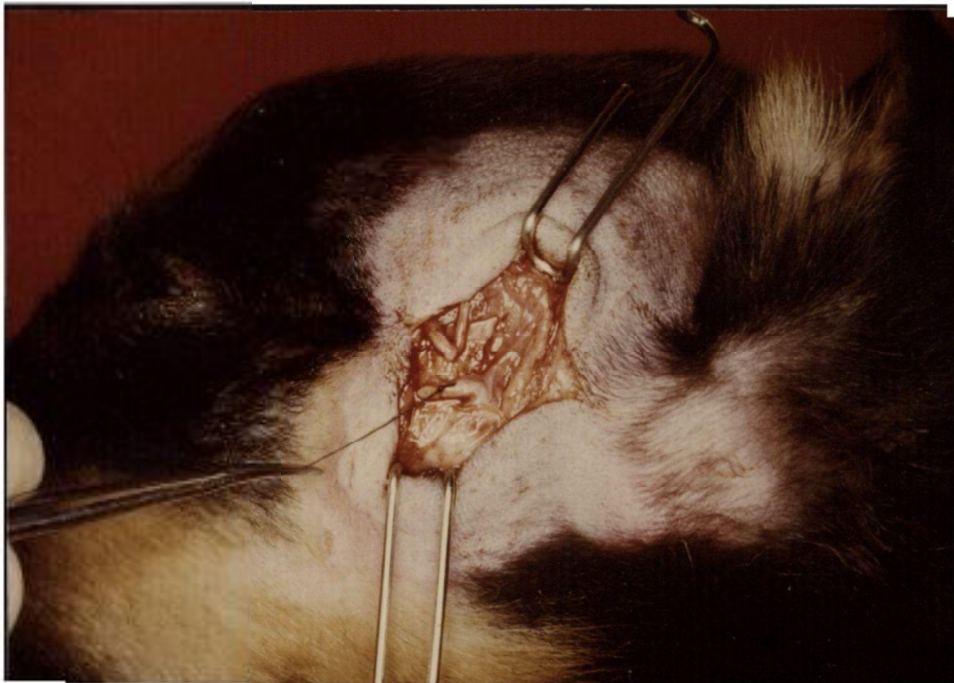


Fig. X

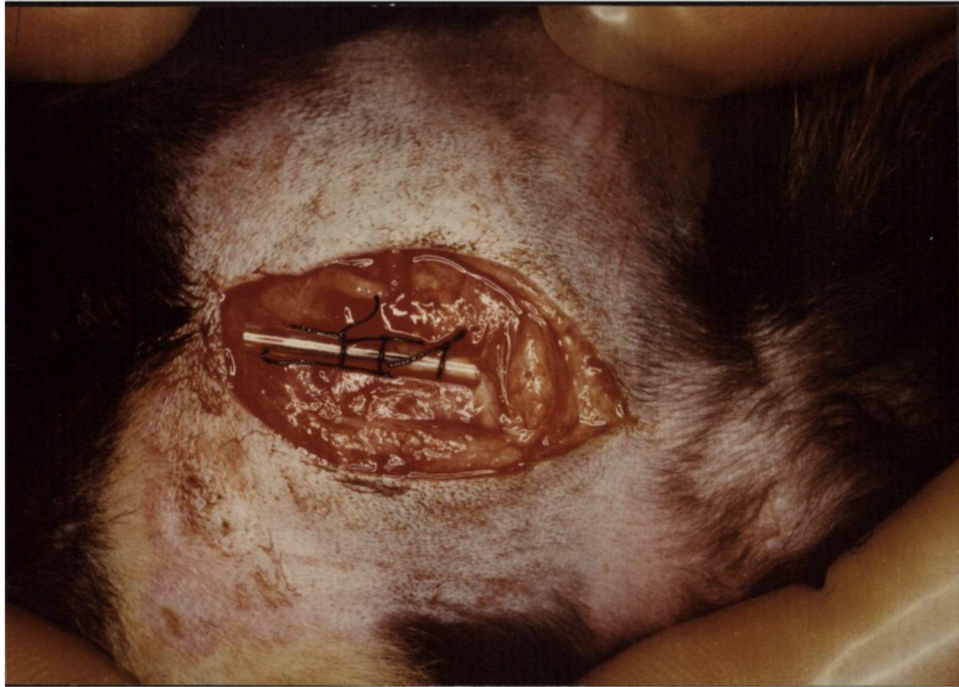


Fig. XI

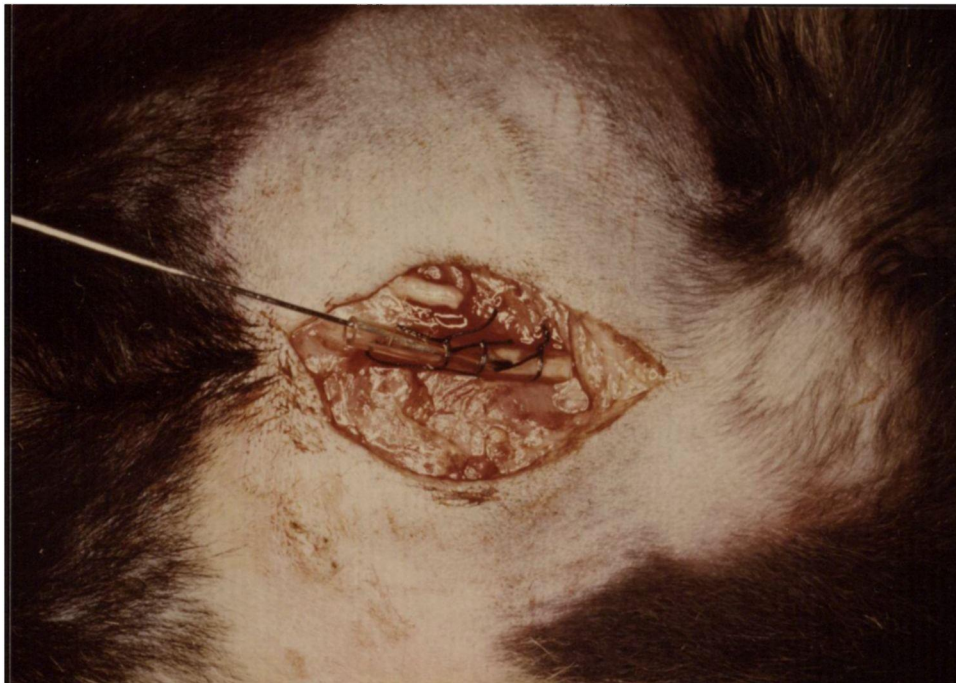


Fig. XII

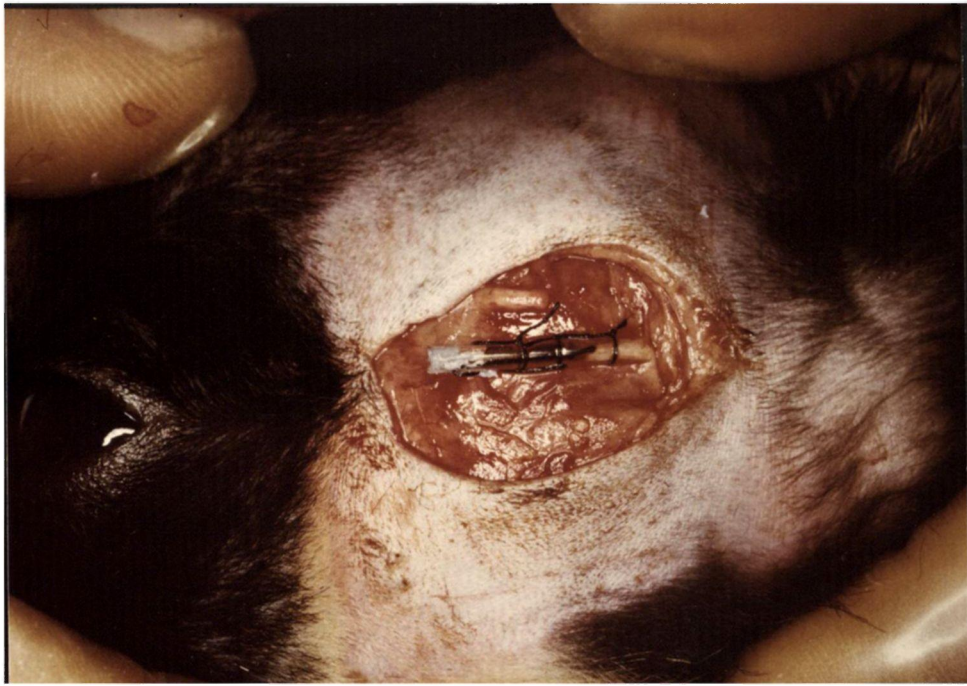


Fig. XIII

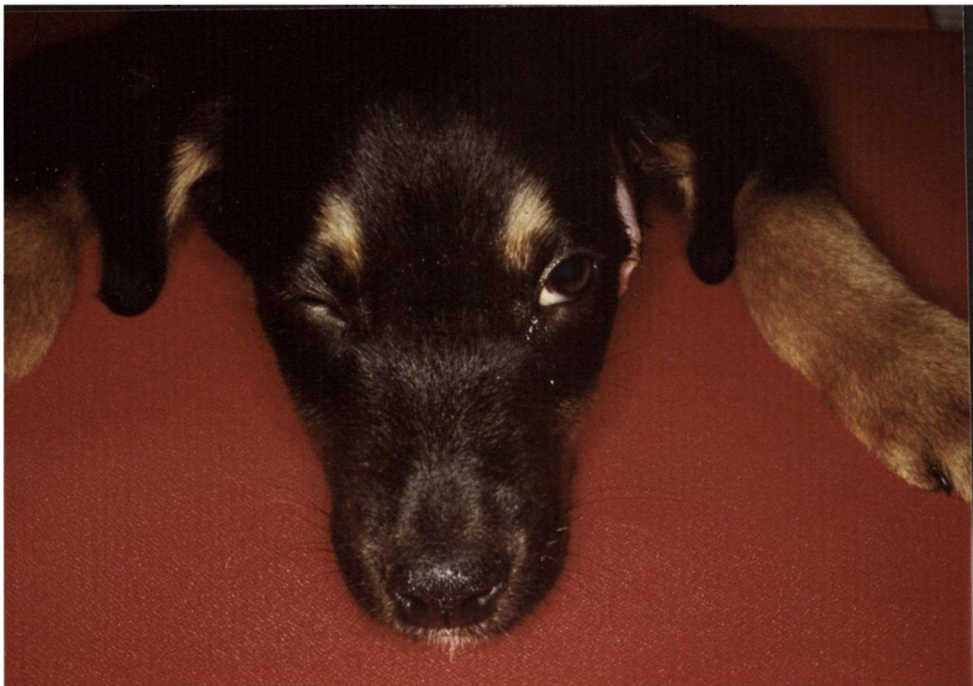


Fig. XIV

ANALISIS MORFOMETRICO

Se han seleccionado, para dibujo a gran aumento, las neuronas marcadas con peroxidasa, según unos criterios más estrictos que los aplicados en el contaje neuronal. Además de una granulación evidente, se exigía la visualización simultánea de los límites nuclear y nucleolar, y la nitidez del contorno somático. Tales condiciones aseguran un muestreo bastante homogéneo, con la posibilidad de extraer parámetros cuantitativos comparables en las distintas situaciones experimentales.

El estudio morfométrico se ha desarrollado en dos etapas:

- entrada de datos y selección de parámetros.
- evaluación estadística.

Ambas etapas se han llevado a cabo en un analizador automático de imágenes IBAS (Zeiss/Kontron, GMBH) provisto de un microprocesador Zilog Z-80A de 64 Kbytes (unidad IBAS-1), y de una unidad de microproceso de imágenes (unidad IBAS-2), que trabaja con un procesador dispuesto en matriz y soporta hasta tres planos de 512 x 512 pixels cada uno.

- Entrada de datos y selección de parámetros

La entrada de datos consiste fundamentalmente en la recepción de imágenes por el dispositivo analizador mediante una cámara de televisión de alta resolución. Las imágenes han sido presentadas de forma sistemática, asignándoles una numeración que correlaciona la disposición espacial de una neurona específica (subdivisión citoarquitectónica y nivel craneo-caudal a que pertenece), y sus características morfométricas.

Después de la transformación analógico-digital del contorno somático, y de un ajuste de escala, se han evaluado 5 parámetros: área, perímetro, diámetro máximo, diámetro mínimo y diámetro medio. El área, expresada en μm^2 , y el perímetro, expresado en μm , son parámetros de interpretación geométrica conocida. En el cálculo de los diámetros máximo y mínimo, el programa de análisis selecciona, entre 50 proyecciones aleatorias que pasan por el centro de gravedad del contorno, aquellos diámetros cuya longitud es mayor y menor, respectivamente. El diámetro medio corresponde a la media aritmética de los diámetros máximo y mínimo, estando los tres expresados en μm .

- Evaluación estadística

Los datos numéricos obtenidos, y convenientemente almacenados en diskettes de 1.2 Mbytes de capacidad, han sido sometidos a un doble tratamiento estadístico. Todos los parámetros morfométricos se han

agrupado en seis clases, designadas como R (de R1 a R6), relacionadas cada una con el ramo que proporcionó el marcaje (R1=auricular anterior; R2=cigomático; R3=bucolabial superior; R4=bucolabial inferior; R5=cervical; R6=auriculares posteriores). Dentro de las clases R2, R3 y R4 efectuamos otra clasificación según la subdivisión citoarquitectónica que ocupara la neurona en el núcleo facial, resultando un total de seis subclases: R2I, R2IM, R3VL, R3DL, R4VL y R4DL (I=intermedio; IM=intermedio medial; VL=ventrolateral; DL=dorsolateral).

La distribución de valores se ha representado gráficamente disponiendo en el eje de abscisas los límites inferiores de clase, y en el eje de ordenadas, el porcentaje o frecuencia relativa de neuronas marcadas. Hemos tomado longitudes de intervalo de $100 \mu\text{m}^2$ en el caso del área celular, e intervalos de $10 \mu\text{m}$ para el perímetro y diámetros.

Un segundo tipo de análisis ha consistido en distribuir tres de los parámetros morfométricos estudiados, área, perímetro, y diámetro medio, en 10 clases, denominadas CL (CL1, CL2, ... CL10), que representan diez niveles caudo-craneales consecutivos del núcleo VII. La clase 1 se hace coincidir con el polo inferior del núcleo, y la clase 10, con el superior. El nivel ocupado por una neurona, o por la sección que la contiene, se establece mediante el cociente:

Nº sección - Nº sección polo inf. + 1

X 10

Nº secciones núcleo

Dicho método normaliza la posición de una neurona respecto al polo inferior del núcleo, y permite establecer comparaciones entre motoneuronas de distinta ubicación, con independencia del tamaño del núcleo facial de origen.

Los histogramas elaborados en este segundo tratamiento representan en ordenadas el número correspondiente a la clase. El eje x se ha segmentado en 10 intervalos regulares, partiendo de la clase 1, o nivel caudal del núcleo, hasta la clase 10, el polo más craneal. La altura de las barras es proporcional a la media calculada para los tres parámetros, en cada nivel caudo-craneal.

También hemos intentado descubrir diferencias en cuanto a la distribución del diámetro medio, tanto en las direcciones dorso-ventral y medio-lateral, como en sentido caudo-craneal. Este parámetro se ha escogido por ser el índice del tamaño neuronal empleado en la mayor parte de estudios morfométricos. Anticipándonos a los resultados, comprobamos que la posición de una célula marcada en el interior del núcleo facial depende del ramo inyectado, y por consiguiente su clase R contiene información referente a su localización en el plano transversal. Paralelamente, la información vertical viene expresada por su clase CL.

Teniendo en cuenta estas indicaciones, hemos aplicado sobre el diámetro neuronal un análisis de la varianza, con dos factores (factor 1: R; factor 2: CL) y réplicas, utilizando el programa Anova (General - Univariate and Multivariate ANOVA), incluido en el paquete estadístico BMDP (BioMedical Statistical - Software), y se ha contrastado posteriormente la significación de la prueba por los métodos de Tukey y de Scheffé.

METODO DE RECONSTRUCCION

TRIDIMENSIONAL

A partir del material histológico tratado según el método de Nissl, y aplicando técnicas de reconstrucción tridimensional asistida por ordenador, hemos elaborado un modelo gráfico del núcleo motor facial del perro, que nos ha permitido analizar detalladamente su configuración espacial.

El soporte hardware, así como algunos aspectos de implementación de software, han sido facilitados por el Centro de Informática de la U.B., cuyas instalaciones disponen de un procesador IBM 3083/XEQ (memoria real de 8 Mbytes), que trabaja bajo el sistema operativo VM/SP (Virtual Machine/System Product).

La configuración del sistema gráfico utilizado incluye:

- Hardware.
 - dispositivos de entrada.
 - mesa de digitalización.
 - dispositivos de salida.
 - pantalla gráfica Tektronix 4113.
 - terminal gráfica IBM 3279.
 - plotter Benson 1333.
 - impresora IBM 4250.

- Software.
 - paquete gráfico IGL.
 - paquete gráfico PRG2.

HARDWARE

- Mesa de digitalización

Es una tabla con superficie activa de 30"x40" (760 mm x 1020 mm) y resolución de 200 puntos por pulgada.

A partir del contorno nuclear facial, proyectado sobre papel, se seleccionan una serie de puntos o nodos mediante un cursor de 4 botones, o alternatively con lápiz magnético. El cursor y el tablero gráfico están conectados a la pantalla Tektronix, la cual es informada de la posición actual del selector y, en caso de presionar uno de los botones, - transforma automáticamente esta posición en coordenadas x e y.

El sistema digitalizador opera según un principio magnético. La tabla está constituida por un entramado de líneas magnéticas dispuestas a intervalos regulares de 0.127 mm, por las que circula un flujo constante de impulsos. La función del selector es interceptar los impulsos en un lugar determinado, - emitiendo una señal que el procesador de la pantalla interpreta en términos de dos coordenadas. Estos valores se transfieren al programa que está siendo

ejecutado, con la posibilidad de aplicarles algún tipo de transformación matemática, y almacenarlos en ficheros.

- Pantalla Tektronix 4113

Es una terminal gráfica tipo ráster, de 19" (483 mm) y mediana resolución (640 x 480 pixels). El píxel, unidad gráfica básica (contracción de picture element), corresponde al punto de menores dimensiones visible en el dispositivo gráfico, y es por consiguiente un índice de su resolución. Dispone de cuatro planos de bits, un total de 38.4 Kbytes por plano y 4096 x 4096 puntos direccionables.

El término ráster hace referencia al mecanismo de generación de la imagen, que consiste en un barrido horizontal del haz electrónico, 'raster scan', semejante al empleado por los receptores de TV., a una frecuencia de refresco no entrelazado de 60 Hz.

La pantalla Tektronix ha sido utilizada en la etapa de digitalización de contornos, y para la toma directa de fotografías. En este último caso se ha trabajado en modo pasivo, reproduciendo las primitivas gráficas del modelo que se hallaban almacenadas en un dispositivo virtual o metafile. El metafile es un fichero que contiene la secuencia de elementos gráficos que constituyen el dibujo.

- Pantalla gráfica IBM 3279

La terminal gráfica IBM 3279 es una pantalla ráster de color, de 14", con 80 x 32 caracteres y 9 x 12 puntos por carácter (720 x 384 pixels).

Aunque presenta menor resolución que la Tektronix - 4113, permite una rápida previsualización del dibujo, comprobándose su correcta orientación, escala y formato antes de generar el metafile correspondiente.

- Plotter Benson 1333

Es un plotter tangencial de tambor provisto de 4 plumas (negra, azul, roja y verde), capaz de reproducir el dibujo con precisión de 0.1 mm. Tiene mecanismos de avance y retroceso del papel, e impresión bidireccional.

- Impresora gráfica IBM 4250

Es una impresora de electroerosión, con muy alta resolución (600 puntos por pulgada). A diferencia del plotter, organiza la impresión en el sentido del avance del papel. La salida impresa a través de este dispositivo se ha reservado para generar dibujos de gran calidad.

SOFTWARE

La reconstrucción tridimensional del núcleo VII ha precisado el diseño de dos programas, uno de digitalización de contornos, y otro de modelización y representación propiamente gráfica, ambos escritos en Fortran 77. El primer programa invoca subrutinas ya compiladas de la librería IGL (Interactive Graphic Library, Plot 10), paquete gráfico desarrollado por la casa Tektronix. El programa de reconstrucción incluye, además, rutinas del paquete gráfico PRG2, producto de utilización interna en el Centro de Informática que, por su carácter estándar, permite visualizar dibujos en cualquier dispositivo del Centro, bien directamente o a través de metafiles.

- Programa de digitalización

El programa de digitalización realiza las funciones de lectura del sistema general de referencia, normalización de coordenadas digitalizadas, y almacenamiento en disco de coordenadas normalizadas.

Por sistema general de referencia se entiende un par de puntos situados sobre los ejes de coordenadas, trazados en la parte superior izquierda del dibujo correspondiente a la primera sección, y equidistantes al origen. Estos puntos deben guardar perfecta homología con el sistema de referencia de las restantes secciones, a fin de que se obtenga su correcta alineación. Una vez introducidos los puntos de referencia, se digitaliza hasta un máximo de 500

puntos por contorno.

Una subrutina de normalización efectúa los cálculos de transformación en el plano x-y -traslaciones y rotaciones- necesarios para reorientar el sistema de referencia actual de acuerdo con el sistema general. A continuación, las coordenadas de los datos son multiplicadas por la matriz de transformación resultante.

Junto a las coordenadas normalizadas de cada contorno se recoge, en un fichero secuencial, el número de sección, valor utilizado por el programa de reconstrucción en el cálculo de la coordenada z. Los sistemas de referencia son almacenados independientemente en un fichero de acceso directo, que es consultado durante la ejecución del programa. Este recurso hace posible la interrupción de la digitalización en el momento que se precise.

- Programa de reconstrucción

El segundo programa, de reconstrucción gráfica a partir de cortes seriados, permite la rotación del modelo en los tres ejes del espacio, respecto a un punto fijo arbitrario (pivot), que puede corresponder a su centro de gravedad. Aplica, así mismo, factores de ampliación y reducción de escala y puede calcular tanto proyecciones paralelas como en perspectiva.

Aparte de las operaciones de 'windowing', es decir, aquellas funciones que establecen la equivalencia

entre la porción del sistema de coordenadas del objeto a representar ('window') y el de la pantalla - ('viewport'), el programa efectúa transformaciones del modelo en base a un sistema de coordenadas variable definido por el usuario, conocido como plano de visión ('view plane', VP). El VP queda definido mediante la especificación de 4 parámetros: el punto de referencia ('view reference point', VRP); el vector perpendicular al VP ('view plane normal', -VPN); la magnitud o distancia entre VRP y VP ('view distance', VD); y la dirección del vector que indica cuál es la parte superior del dibujo ('view up vector', VUP).

Durante la inicialización del programa de reconstrucción tiene lugar la carga de los parámetros de transformación de imagen (escala, rotación, traslación, y pivot), tipo y dirección de proyección, transformación a VP (VRP, VPN, VD y VUP), y 'windowing' - (window, viewport), que asumen por defecto los siguientes valores:

escala eje x:	1
escala eje y:	1
escala eje z:	1
rotación eje x:	0
rotación eje y:	0
rotación eje z:	0
traslación eje x:	0
traslación eje y:	0
traslación eje z:	0
pivot:	(0, 0, 0)
proyección:	paralela
dirección de proy.:	(0, 0, 1)

```

VRP:          ( 0, 0, 0)
VPN:          ( 0, 0, -1)
VD:           0
VUP:          ( 0, 1, 0)
window:       ( 0, 100, 0, 100)
viewport:     ( 0, 100, 0, 100)

```

El programa de reconstrucción tridimensional está organizado en niveles de complejidad creciente, que van desde la superposición de contornos, pasando por niveles de elaboración intermedia, hasta la obtención de un modelo 'sólido' definitivo.

En la Figura XV se muestra un ejemplo generado por superposición de 20 secciones del tallo encefálico de la rata, digitalizadas a partir del atlas estereotáxico de PAXINOS y WATSON (1982) a intervalos de 0.5 cm. Este y sucesivos dibujos han sido representados en idénticas condiciones gráficas, con una rotación antihoraria de 70° respecto al eje x, y en proyección paralela, con la finalidad de poder establecer comparaciones entre distintos estadios del proceso de modelización. En la Figura XVI, a diferencia de la precedente, se ha utilizado un algoritmo de ocultación.

En una etapa posterior (Fig. XVII) se procede a la completa triangulación del modelo, operación consistente en la extracción de un mosaico de elementos poligonales entre pares de contornos adyacentes. Ciertas convenciones simplifican el problema de conexión de nodos. En primer lugar, es aconsejable iniciar la triangulación en puntos relativamente

próximos, preseleccionados con algún criterio topográfico. En segundo lugar, el mecanismo de triangulación debe progresar en la misma dirección para la totalidad de secciones. Esta secuencia viene determinada por el sentido que se haya adoptado durante la digitalización.

Seguidamente, el cálculo de la dirección del vector normal a cada panel triangular permite eliminar - aquellos polígonos cuya superficie limita con la - parte interna del objeto. El modelo de la Figura - XVII está constituido por 2584 unidades triangulares, de las que sólo 1297, representadas en la Figura XVIII, son potencialmente visibles desde el exterior. Este paso supone, por consiguiente, una exclusión del 50% de elementos a procesar, reduciéndose significativamente el tiempo de computación.

Para la representación definitiva del modelo se ha implementado un algoritmo tipo 'painter', que organiza el display de los triángulos, seleccionados por el procedimiento anterior, atendiendo a su profundidad respecto al observador. Los triángulos se ordenan geoméricamente, comparándolos dos a dos, de forma que los más alejados son los primeros en proyectarse, siendo sucesivamente ocultados por paneles de posición más próxima. La Figura XIX demuestra la capacidad de ocultación del procedimiento aplicado, apreciándose sin dificultad algunos detalles de la superficie dorsal del tronco del encéfalo, como la depresión de la fosa romboidal, o el perfil de los tubérculos cuadrigéminos.

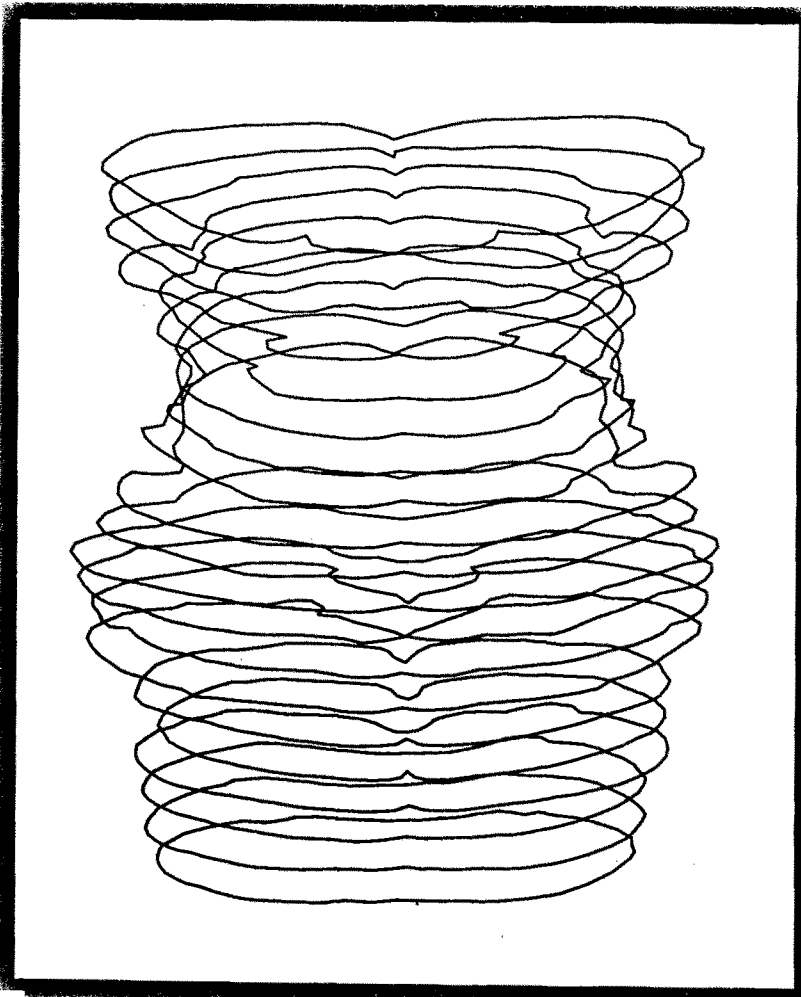


Fig. XV

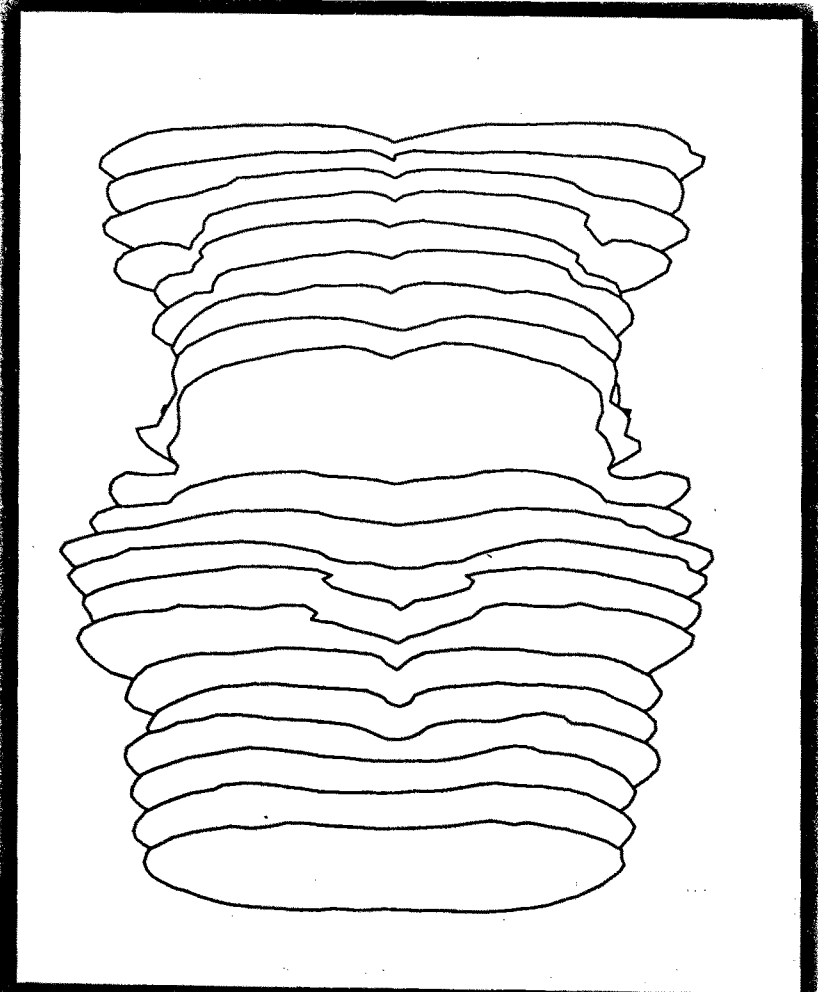


Fig. XVI

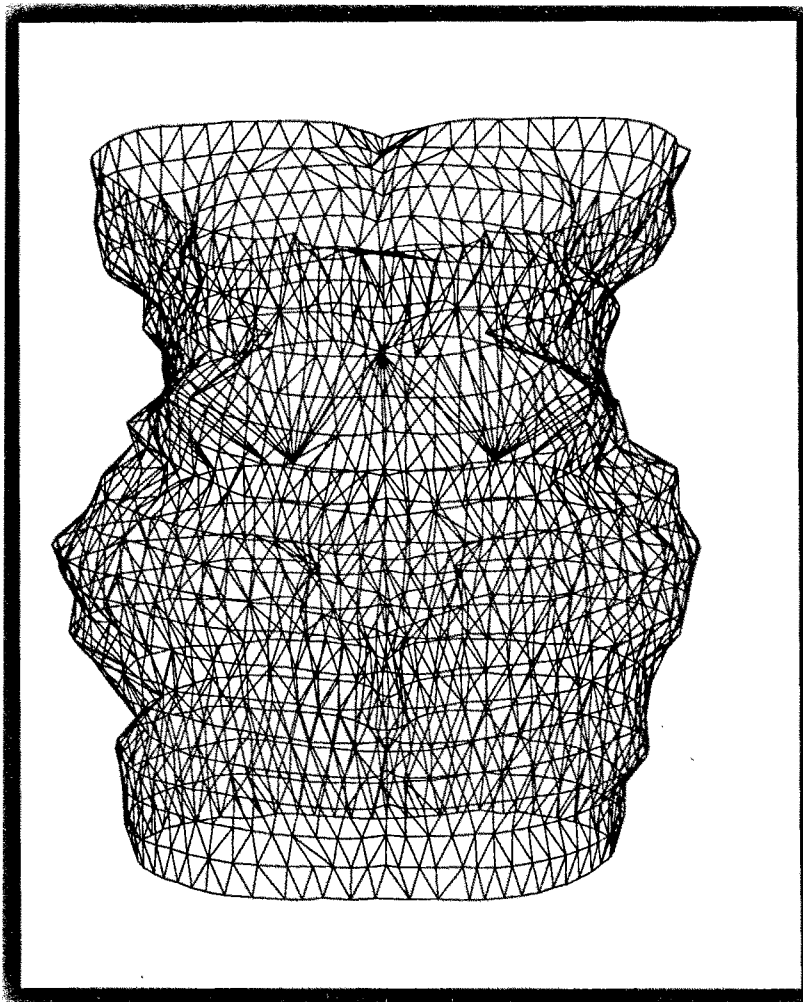


Fig. XVII

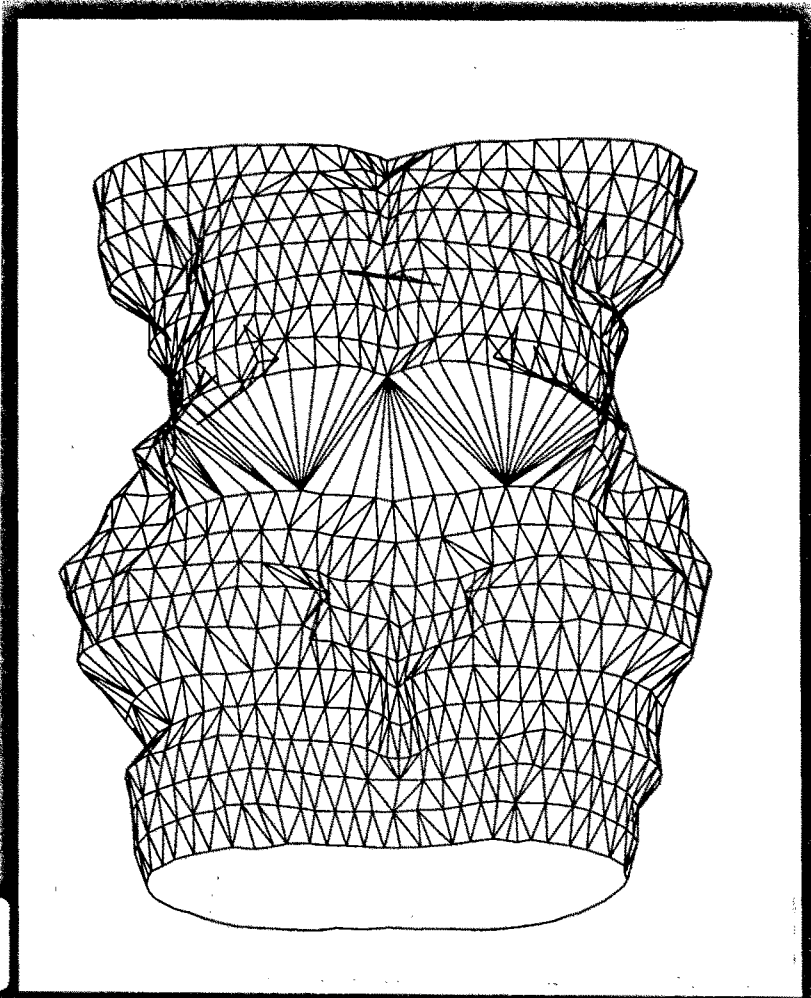


Fig. XVIII

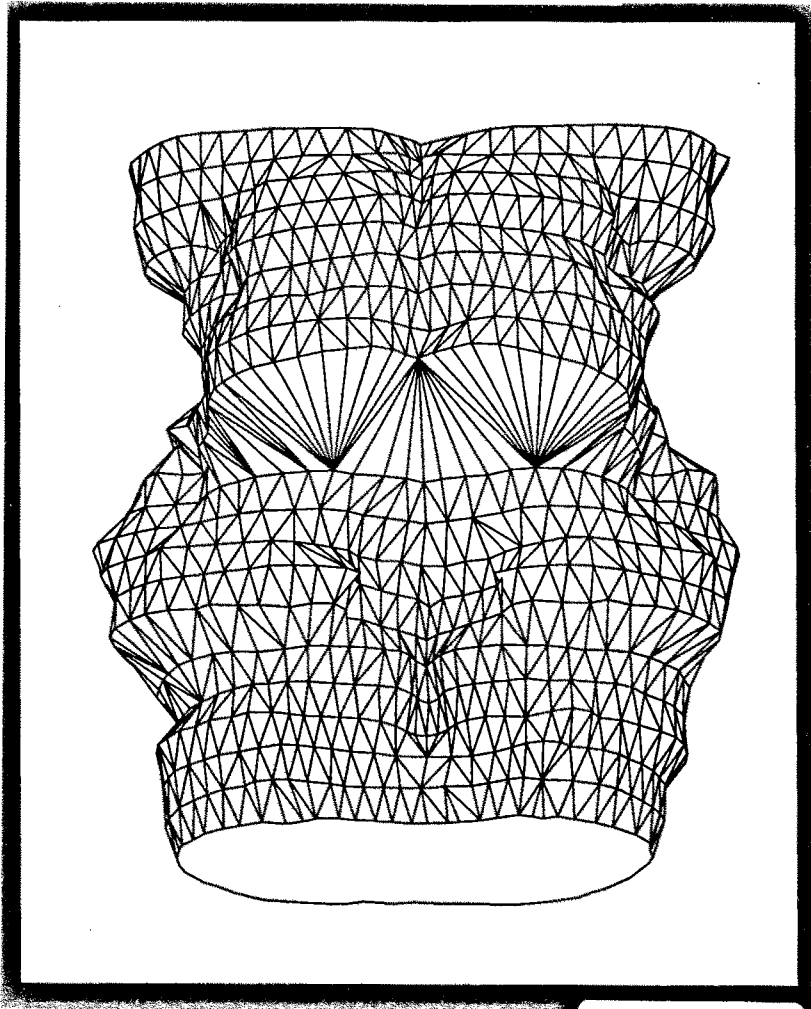


Fig. XIX

PREPARACION DE SOLUCIONES.TINCIONES- PARAFORMALDEHIDO 4% TAMPONADO

- Disolver 40 gr de PF en polvo en un volumen de 500 ml de agua destilada, a 60-70°C, y agitación constante.
- Aclarar la solución con unas gotas de NaOH - (1 N).
- Filtrar y dejar enfriar.
- Añadir 500 ml de tampón fosfato 0.2 M. Ajustar el pH a 7.4.

- PARAFORMALDEHIDO 1%- GLUTARALDEHIDO 1.25% TAMPO-
PONADO (KARNOVSKY)

- Disolver 10 gr de PF en polvo en 400 ml de agua destilada según las indicaciones anteriores.
- Añadir 50 ml de glutaraldehído, al 25%, y enrasar con agua destilada hasta 500 ml.
- Añadir 500 ml de tampón fosfato 0.2 M a la solución y ajustar el pH a 7.4.

- METODO DE NISSL. TIONINA

- Desparafinar las secciones en xilol.
- Alcohol 96%. 5 min.
- Alcohol absoluto. 5 min.
- Cloroformo-éter-alcohol absoluto (8:1:1). 30 min.
- Hidratar en alcoholes de 80%, 5 min., y 70%, 2-3 min.
- Mantener las secciones en agua destilada - hasta el momento de teñir.
- Inmersión en solución de tionina al 1%, en - tampón acetato.
- Lavar en agua destilada, eliminando el exceso de colorante.
- Diferenciar en alcohol 96% y alcohol absoluto, 3-5 min. y 2-5 min., respectivamente.
- Alcohol butílico. 10 min.
- Aclarar en varios cambios de xilol. Montar en medio sintético (DPX).

- METODO DE LUXOL FAST BLUE - VIOLETA DE CRESIL
(KLUVER-BARRERA)

- Desparafinar en xilol.
- Alcohol de 96%. 5 min.
- Teñir en Solución A, a 57°C, 16-24 horas.
- Inmersión en alcohol 96%, hasta eliminar el exceso de colorante.
- Diferenciación en una solución acuosa de - carbonato de litio al 0.05%, seguida de varios cambios en alcohol 70%.
- Lavar en agua destilada.
- Repetir el tratamiento en solución acuosa - de litio, alcoholes de 70% y agua destilada.
- Teñir en Solución B, bajo estufa, 6 min.
- Lavar y diferenciar como en el método de - Nissl.
- Aclarar en xilol. Montar en DPX.

Solución A

- Luxol Fast Blue 1 gr.
- Alcohol 95% 1000 ml.
- Acido acético 10% 5 ml.

Solución B

- Violeta de cresil 1 gr.
- Agua destilada 1000 ml.

Añadir unas gotas de ácido acético al 10% antes de usar.

- METODO DE WEIGERT-PAL

- Fijar los bloques de tejido en formol 10%, y transferirlos al mordiente rápido de Weigert
- Lavar en agua corriente, varias horas.
- Deshidratar, incluir en parafina y cortar secciones de 10 μ m de espesor.
- Teñir, durante 24-48 horas, en una mezcla reciente consistente en:
 - Solución C 1 volumen.
 - Solución D 9 volúmenes.
- Inmersión en permanganato potásico al 0.25%. 2-3 min. Lavar en agua destilada.
- Diferenciar en una solución con la siguiente composición:
 - Acido oxálico 1% 50 ml.
 - Sulfito potásico 1% 50 ml.hasta decolorar la sustancia gris.
- Contrateñir (opcional).
- Lavado rápido en agua.
- Deshidratar. Aclarar en xilol. Montar.

Mordiente rápido de Weigert

- Dicromato potásico 5 gr.
- Fluoruro de cromo (polvo) 2 gr.
- Agua destilada 100 ml.

Disolver en caliente. Dejar enfriar y filtrar la solución.

Solución C

- Hematoxilina al 10%
en alcohol absoluto 10 ml.
- Alcohol absoluto 90 ml.

Solución D

- solución acuosa saturada
de carbonato de litio 7 ml.
- Agua destilada 93 ml.

- METODO DE WEIL

- Desparafinar e hidratar en alcoholes de concentración decreciente hasta agua destilada.
- Teñir, a 50-55°C, en Solución E. 30-40 min.
- Lávar en agua corriente.
- Diferenciar en sulfato férrico amónico al 4% hasta obtener una coloración gris.
- Lavar en agua destilada.
- Completar la diferenciación, con control microscópico, en Solución F.
- Lavar en agua destilada, a la que se añaden unas gotas de amoníaco (5 gotas/100 ml.).
- Deshidratar. Aclarar. Montar.

Solución E

- Hematoxilina al 1%
en alcohol absoluto 1 parte
- Sulfato férrico
amónico al 4% 1 parte

Solución F

- Bórax 1 gr.
- Ferrocianuro potásico 1.25 gr.
- Agua destilada 100 ml.

OBSERVACIONES

I. - ESTUDIO HISTO-TOPOGRAFICO
DEL NUCLEO Y DEL TRAYECTO
INTRAENCEFALICO DEL
NERVIO FACIAL.

IA. - DISPOSICION Y TOPOGRAFIA DEL NUCLEO MOTOR FACIAL

IA.1. - LOCALIZACION

El núcleo motor facial del perro se localiza en las regiones craneales del bulbo raquídeo y porciones más caudales de la protuberancia, manteniéndose, especialmente en las regiones bulbares, muy próximo a su superficie ventrolateral (Fig. 1). A estos niveles es posible distinguir una pequeña eminencia o tubérculo facial en la pared troncoencefálica, por debajo del relieve del cuerpo trapezoides.

IA.2. - LIMITES

Su polo caudal se extiende hasta un nivel ligeramente craneal al polo superior del complejo olivar inferior. En el examen de nuestro material hemos observado que estas dos estructuras nunca comparten el mismo plano frontal, existiendo una separación media de 590 μm ($\pm 260 \mu\text{m}$) entre el núcleo facial y la oliva inferior del lado izquierdo, con un intervalo de variación de 50 a 850 μm , y una separación

media de 620 μm ($\pm 220 \mu\text{m}$), con un intervalo de variación de 250 a 1000 μm , entre ambas estructuras del lado derecho.

El polo craneal del núcleo motor facial alcanza la región del cuerpo trapezoides donde adopta una posición dorsal a las porciones caudales del complejo olivar superior. Coincide, así mismo, con el plano de aparición del polo caudal del núcleo motor ocular externo.

IA. 3. - DIMENSIONES

En ambos lados, el núcleo facial tiene unas dimensiones caudo-craneales prácticamente idénticas, con una altura media de 2.14 mm ($\pm 0.15 \text{ mm}$) y unos valores máximos y mínimos de 2.35 mm y 1.90 mm, respectivamente. En secciones transversales practicadas a nivel medio del núcleo presenta un área de 1.81 mm^2 ($\pm 0.21 \text{ mm}^2$), un perímetro de 6.86 mm ($\pm 0.29 \text{ mm}$), un diámetro máximo de 2.24 mm ($\pm 0.10 \text{ mm}$) y un diámetro mínimo de 1.24 mm ($\pm 0.09 \text{ mm}$). Los valores extremos de estos cuatro parámetros, así como los datos morfométricos calculados a media distancia entre el polo caudal y el centro del núcleo - (nivel medio-caudal) y entre éste y el polo craneal (nivel medio-craneal) se expresan a continuación.

NIVEL	MIN.	MAX.	MEDIA	±	σ
MEDIO-CAUDAL					
AREA	1.159	1.614	1.352	±	0.171
PERIM.	5.378	6.388	5.906	±	0.452
DMAX.	1.682	2.129	1.888	±	0.169
DMIN.	1.035	1.213	1.127	±	0.077
MEDIO					
AREA	1.475	2.004	1.815	±	0.208
PERIM.	6.454	7.165	6.857	±	0.286
DMAX.	2.083	2.348	2.240	±	0.098
DMIN.	1.088	1.325	1.238	±	0.091
MEDIO-CRANEAL					
AREA	1.260	1.704	1.535	±	0.177
PERIM.	6.091	6.601	6.349	±	0.207
DMAX.	1.938	2.301	2.134	±	0.156
DMIN.	1.049	1.176	1.116	±	0.047

IA. 4. - RELACIONES

La Figura 1 muestra la proximidad del núcleo motor facial a la pared ventrolateral del bulbo raquídeo, ocupando una posición equidistante entre el fascículo piramidal y el tracto espinal del nervio trigémino. Limita por sus bordes medial y dorsomedial con el núcleo reticular gigantocelular, dorsalmente con el núcleo reticular parvocelular y dorsolateralmente con el núcleo y tracto espinal del nervio trigémino.

IB. - TRAYECTO INTRAENCEFALICO DEL NERVIO FACIAL

IB. 1. - FIBRAS LONGITUDINALES Y HORIZONTALES

Los métodos mielo- y fibro-arquitectónicos ponen de manifiesto la existencia, alrededor del núcleo facial, de dos tipos de organización de fibras nerviosas longitudinales (Fig. 2). El componente mayoritario está constituido por fibras que se disponen de forma homogénea en los límites ventrales del núcleo. Por el contrario, en su borde dorsal se concentra un número variable de fascículos mielínicos compactos, de sección circular u oval, que lo separan de la formación reticular adyacente.

Una segunda categoría de fibras, denominadas fibras horizontales por su orientación en el plano frontal, no muestra un patrón de distribución específico en las regiones ventrales y laterales del núcleo facial. Sin embargo, adoptan una orientación claramente dorsomedial a medida que son examinadas las regiones más dorsales del núcleo. Gran parte de estas fibras, en su mayoría radiculares, abandonan el núcleo facial a nivel de sus bordes dorsal y dorsomedial, atravesando la franja de gruesos fascículos longitudinales que encapsulan dorsalmente al núcleo (Fig. 2).

IB. 2. - RAIZ ASCENDENTE

Fuera de los límites del núcleo facial, las fibras radiculares se organizan en pequeños fascículos de

dirección dorsomedial (Fig.2), los cuales constituyen en conjunto la raíz ascendente del nervio facial. Las fibras de esta raíz confluyen cerca de la región subependimaria y cambian bruscamente de dirección en la rodilla del nervio facial.

IB. 3. - RODILLA

La rodilla o segunda porción intraencefálica del nervio facial es una estructura fuertemente mielinizada, de sección oval con eje mayor látero-medial y eje menor ántero-posterior, que presenta una posición subventricular en todo su recorrido caudo-craneal (Fig.3).

Mantiene importantes relaciones topográficas con las siguientes estructuras (Figs. 3 y 4.1): por detrás, con el fascículo longitudinal dorsal y porciones orales del núcleo prehipogloso, denominado a este nivel núcleo supragenikulado; por delante y afuera, con el borde dorsomedial del núcleo motor ocular externo; lateralmente, con el núcleo vestibular medial; y por dentro, con el fascículo longitudinal medial, del que está frecuentemente separado por un haz de fibras, ventral a la rodilla, que pierde su individualidad después de cruzarse en el rafe medio con el haz homólogo del lado opuesto. Las fibras de este haz presentan un trayecto horizontal característico y se interponen externamente entre los núcleos vestibulares, por detrás, y el núcleo y tracto espinal del nervio trigémino, por delante - (Fig.3). Pertenecen al pedúnculo olivar (fibras olivo-cocleares) asociadas a fibras de origen vestibular.

lar. Es improbable que entre estas fibras que atraviesan el rafe medio cerca de la rodilla exista un componente branquiomotor facial cruzado, debido a que, tal como se expodrá más adelante, se ha comprobado una ausencia total de marcaje en el núcleo motor facial contralateral, tras la aplicación de HRP en los seis ramos periféricos principales del nervio facial.

IB. 4. - RAIZ DESCENDENTE

La última porción intraencefálica del nervio facial o raíz descendente se desprende del límite ventral y vértice externo de la rodilla, por detrás del núcleo motor ocular externo (Figs. 4.2 y 5), siguiendo un curso medio-lateral durante una corta distancia. Coincidiendo con el paso de fibras vestibulares secundarias y de la estria acústica dorsal, la raíz descendente efectúa una incurvación ventral. Dos o tres fascículos compactos constituyen el último tramo de la raíz descendente, de localización medial al núcleo espinal del nervio trigémino y lateral al complejo olivar superior (Fig. 5), que se dirige finalmente hacia su punto de emergencia en la superficie ventrolateral de la protuberancia. Las porciones más craneales de la raíz descendente del nervio facial también se relacionan, por dentro, con el polo caudal del núcleo motor del trigémino (Fig. 6.1), cuya presencia interrumpe a estos niveles el trayecto rectilíneo de la raíz (Fig. 6.2), obligándola a incurvarse caudalmente formando la denominada segunda rodilla interna del nervio facial.